

Université de Montréal

**Transfusions de concentrés de plaquettes aux soins intensifs pédiatriques:
Épidémiologie, indications, effets bénéfiques et adverses potentiels**

Par
Geneviève Du Pont-Thibodeau

Programme de Sciences Biomédicales
Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des Études Supérieures en vue de l'obtention du grade de
Maîtrise en Sciences (M. Sc.)
En sciences biomédicales
Option recherche clinique

Août 2016

@Geneviève Du Pont-Thibodeau, 2016

Le cœur de ce mémoire de maîtrise est constitué par deux articles scientifiques publiés récemment. Les deux résumés qui suivent en présentent brièvement l'essentiel.

Résumé 1

Hypotension et réactions hypotensives aiguës isolées associées aux transfusions de concentrés de plaquettes

Objectifs: Les transfusions de concentrés de plaquettes sont associées à plusieurs types de réactions transfusionnelles impliquant de l'hypotension, notamment des réactions hypotensives aiguës isolées médiées par la relâche de bradykinines. L'objectif de cette étude est de déterminer l'incidence d'épisodes d'hypotension et plus particulièrement de réactions hypotensives aiguës isolées associées aux transfusions de concentrés de plaquettes. Nous avons aussi tenté de déterminer si ces événements sont associés à un niveau élevé de bradykinines.

Matériels et Méthodes: Il s'agit d'une étude prospective descriptive portant sur les transfusions de concentrés de plaquettes au Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine. L'étude s'est déroulée sur 28 mois. Durant cette période, tous les rapports d'incidents/accidents associés aux transfusions (RIATs) de concentrés de plaquettes transmis à la banque de sang du CHU Sainte-Justine et impliquant un épisode d'hypotension ont été identifiés. Ces RIATs furent revus par un comité d'adjudicateurs qui ont évalué et déterminé l'imputabilité de chaque réaction à la transfusion de plaquettes. Tous les sacs et tubulures des concentrés de plaquettes transfusés ont été retournés à la banque de sang après chaque transfusion. La concentration de bradykinines

fut mesurée dans les 168 premiers sacs de concentrés de plaquettes retournés à la banque de sang. Les niveaux de bradykinines des concentrés de plaquettes associés à un épisode d'hypotension et des concentrés de plaquettes non associés à de l'hypotension ont par la suite été comparés.

Résultats: 3672 sacs de concentrés de plaquettes furent retournés à la banque de sang parmi lesquels 25 furent associés avec un épisode d'hypotension. Les adjudicateurs ont identifiés 5 épisodes hypotensifs attribuables aux concentrés de plaquettes dont une réaction hypotensive aigue isolée (incidence par transfusion: 0.03%). Le niveau de bradykinines dans cette dernière réaction était de 10 pg/ml, alors qu'il était de 226.2 ± 1252 pg/ml (95%CI : 20.0-432.4 pg/ml) dans les 143 concentrés de plaquettes contrôles.

Conclusion: L'incidence d'hypotension suivant l'administration de concentrés de plaquettes est faible. Nous n'avons identifié qu'une seule réaction hypotensive aigue isolée. Nous n'avons pas été en mesure d'identifier de corrélation entre le niveau de bradykinines et l'incidence de ces réactions.

Mots-clés: bradykinines, concentrés de plaquettes, transfusions de plaquettes, réactions transfusionnelles

Résumé 2

Transfusions de plaquettes aux soins intensifs pédiatriques

Objectifs: Caractériser l'épidémiologie et les déterminants des transfusions de plaquettes dans une unité de soins intensifs pédiatriques et vérifier s'il existe une association entre ces transfusions et une augmentation de la morbidité et de la mortalité.

Méthode: Étude prospective observationnelle unicentrique, combinée à un questionnaire.

Lieu: Unité de soins intensifs pédiatriques du Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine.

Patients: Tous les enfants admis à l'unité de soins intensifs d'avril 2009 à avril 2010.

Intervention: Aucune.

Résultats: Parmi les 842 patients admis consécutivement aux soins intensifs, 60 patients (7.1%) ont reçu au moins une transfusion de plaquettes durant leur séjour. Les déterminants de transfusions de plaquettes identifiés à l'analyse univariée sont un score de PRISM à l'admission >10 (rapport de cotes (RC): 6.80; 95%CI: 2.5-18.3, p <0.01), un score de PELOD >20 (RC: 26.9; 95%CI: 8.88-81.5, p <0.01), un antécédent de néoplasie (RC: 5.08; 95%CI: 2.43-10.68, p <0.01), une thrombocytopénie (compte plaquettaire <50 x 10⁹/L ou < 50,000/mm³) (RC: 141; 95%CI: 50.4-394.5, p <0.01), l'utilisation d'héparine (RC:3.03; 95%CI 1.40-6.37, p <0.01), un état de choc (RC: 5.73; 95%CI: 2.85-11.5, p <0.01) et un syndrome de défaillance multiviscérale (RC: 10.41; 95%CI: 5.89-10.40, p <0.01). À l'analyse multivariée, seuls le compte de plaquettes de <50 x 10⁹/L (RC: 138; 95%CI: 42.6-449, p <0.01) et un âge <12 mois (RC: 3.06; 95%CI: 1.03-9.10, p=0.02) demeurent des déterminants statistiquement significatifs. Les intensivistes ont répondu qu'ils avaient prescrits une transfusion de plaquettes principalement à cause d'une

thrombocytopénie (compte moyen de plaquettes pré-transfusion de $32 \pm 27 \times 10^9/L$ (médiane 21)), ou d'un saignement actif (compte moyen de plaquettes pré-transfusion de $76 \pm 39 \times 10^9/L$ (médiane 72)). Les transfusions de plaquettes sont associées avec le développement d'un syndrome de défaillance multiviscérale (RC: 2.53; 95%CI: 1.18-5.43, $p=0.03$) et la mortalité (RC: 10.1; 95%CI: 4.48-22.7, $p<0.01$).

Conclusions: 7.1% des enfants admis aux soins intensifs reçoivent au moins une transfusion de plaquettes durant leur séjour. La thrombocytopénie et un saignement actif sont des déterminants significatifs de transfusion de plaquettes. Les patients recevant une transfusion de plaquettes ont un risque plus élevé de développer un syndrome de défaillance multi-viscérale et ont un risque plus élevé de mortalité.

Mots-clés : cohorte, pédiatrie, soins intensifs, transfusions de plaquettes, déterminants, thrombocytopénie

The most important parts of this thesis are two scientific peer-reviewed papers. They are summarized in the two following abstracts.

Abstract 1

Incidence of hypotension and acute isolated hypotensive transfusion reactions following platelet concentrate transfusions

Background and objectives: Platelet concentrates (PCs) are associated with transfusion reactions involving hypotension, particularly bradykinin-mediated acute isolated hypotensive transfusion reactions. This study aims to determine the incidence of hypotensive events and more specifically acute isolated hypotensive transfusion reactions associated with PC transfusions. We also sought to ascertain whether these reactions are associated with high bradykinin levels.

Materials and Methods: This is a prospective descriptive study of PCs administered at Sainte-Justine Hospital over 28 months. All PCs administered during this period were screened for hypotension through review of all transfusion-associated reaction reports (TARRs) sent to the blood bank. All residual PC bags were returned to the blood bank. TARRs associated with hypotension were reviewed by adjudicators who established the imputability of the PC transfusion to the reaction. Bradykinin levels were measured in the first 168 PC bags returned to the blood bank. Levels were compared between PCs associated with hypotension and control PCs not associated with hypotension.

Results: A total of 3672 PC bags were returned to the blood bank; 25 PCs were associated with hypotension. Adjudicators ascertained that five hypotensive events were

imputable to PCs of which one was an acute isolated hypotensive transfusion reaction (incidence per transfusion: 0.03%). Bradykinin level in the latter PC was 10 pg/ml, whereas levels were 226.2 pg/ml (95%CI : 20.0-432.4 pg/ml) in the 143 control PCs.

Conclusion: Our results show a low incidence of hypotension after PC transfusion. We identified only one acute isolated hypotensive transfusion reaction. No correlation between bradykinin level and the occurrence of acute isolated hypotensive reactions could be observed given that only one event was identified.

Key words: bradykinins, platelet concentrates, platelet transfusion, transfusion reactions

Abstract 2

Platelet transfusions in pediatric intensive care

Objectives: To characterize the epidemiology and the determinants of platelet transfusion (PT) in a pediatric intensive care unit (PICU) and determine whether there exists an association between PT and adverse outcomes.

Design: Prospective observational single center study, combined with a self-administered survey.

Setting: PICU of Sainte-Justine Hospital, a university-affiliated tertiary care institution.

Patients: All children admitted to the PICU from April 2009 to April 2010.

Intervention: None.

Measurements and Main Results: Among 842 consecutive PICU admissions, 60 patients (7.1%) received at least one PT while in PICU. In the univariate analysis, significant determinants for PT transfusion were admission PRISM >10 (odds ratio (OR): 6.80; 95%CI: 2.5-18.3, $p < 0.01$) and PELOD scores >20 (OR: 26.9; 95%CI: 8.88-81.5, $p < 0.01$), history of malignancy (OR: 5.08; 95%CI: 2.43-10.68, $p < 0.01$), thrombocytopenia (platelet count $< 50 \times 10^9/L$ or $< 50,000/mm^3$) (OR: 141; 95%CI: 50.4-394.5, $p < 0.01$), use of heparin (OR: 3.03; 95%CI 1.40-6.37, $p < 0.01$), shock (OR: 5.73; 95%CI: 2.85-11.5, $p < 0.01$) and multiple organ dysfunction syndrome (MODS) (OR: 10.41; 95%CI: 5.89-10.40, $p < 0.01$). In the multivariate analysis, platelet count $< 50 \times 10^9/L$ (OR: 138; 95%CI: 42.6-449, $p < 0.01$) and age less than 12 months (OR: 3.06; 95%CI: 1.03-9.10, $p = 0.02$) remained statistically significant determinants. The attending physicians were asked why they gave a PT; the most frequent justification was prophylactic platelet transfusion in presence of thrombocytopenia with an average pre-

transfusion platelet count of $32 \pm 27 \times 10^9/L$ (median 21), followed by active bleeding with an average pre-transfusion platelet count of $76 \pm 39 \times 10^9/L$ (median 72). PTs were associated with the subsequent development of MODS (OR: 2.53; 95%CI: 1.18-5.43, $p=0.03$) and mortality (OR: 10.1; 95%CI: 4.48-22.7, $p<0.01$).

Conclusions: 7.1% of children received at least one PT while in PICU.

Thrombocytopenia and active bleeding are significant determinants of PT. Patients that received PTs had a higher risk of developing MODS and had a higher risk of mortality.

Key-words: cohort; pediatrics; intensive care; platelet transfusion; determinants; outcomes; thrombocytopenia

Table des matières

Introduction

Chapitre 1: Thrombocytopénie et transfusions des plaquettes

1. Thrombocytopénie
 - 1.1. Définition et étiologie
 - 1.2. Étiologie et incidence de la thrombocytopénie aux soins intensifs
 - 1.3. Complications
2. Transfusion de plaquettes
 - 2.1. Historique
 - 2.2. Rôle des plaquettes
 - 2.3. Entreposage des plaquettes
 - 2.4. Prélèvement
 - 2.5. Incidence
 - 2.6. Efficacité
 - 2.7. Effets adverses
 - 2.8. Réactions hypotensives aiguës isolées
 - 2.9. Pratiques actuelles
3. Problématique

Chapitre 2: Présentation de 2 articles

1. Réactions hypotensives associées aux transfusions de plaquettes
2. Épidémiologie et effets adverses liés aux transfusions de plaquettes aux soins intensifs pédiatriques

Chapitre 3: Critique

1. Critique : Réactions hypotensives associées aux transfusions de plaquettes
 - 1.1. Rappel de la problématique et des objectifs de l'étude
 - 1.2. L'identification des réactions transfusionnelles impliquant l'hypotension
 - 1.3. La mesure du taux de bradykinines
 - 1.4. Nos résultats
2. Critique : Épidémiologie et effets adverses liés aux transfusions de plaquettes aux soins intensifs
 - 2.1. Rappel de la problématique et des objectifs de l'étude
 - 2.2. Le choix d'une étude observationnelle
 - 2.3. La validité interne
 - 2.3.1. Confounding by indication
 - 2.3.1.1. Stratification
 - 2.3.1.2. Restriction
 - 2.3.1.3. Analyse multivariée
 - 2.3.1.4. Score de propensité
 - 2.3.1.5. Variable instrumentale
 - 2.3.2. Biais d'information
 - 2.3.3. Biais de sélection
 - 2.4. La validité externe

Chapitre 4: Conclusions et perspectives

Liste des tableaux et figures de chaque article

Article 1 : Incidence of Hypotension and Acute Hypotensive Transfusion Reactions Following Platelets Concentrate Transfusion

- Figure 1 : Study processes to ascertain samples associated with acute hypotensives reactions vs. control samples.
- Figure 2 : BK levels in PCs associated with clinically significant hypotension and in controls
- Table 1 : Degree of imputability of the reaction to the PC transfusion
- Table 2 : Recipient demographic data for all five cases of hypotensive events
- Table 3 : Studies measuring incidence of acute hypotensive transfusion reactions

Article 2 : Platelet Transfusions in Pediatric Intensive Care

- Figure 1 : Patient flow chart
- Table 1 : Demographic and clinical data at PICU entry
- Table 2 : Interventions and cointerventions in transfused and nontransfused patients
- Table 3 : Possible determinants of platelet transfusion : univariate and multivariate analyses
- Table 4 : Justification for first platelet transfusion stated by ordering physician (n=60) and associated pre and post-transfusion platelet counts
- Table 5 : Outcomes associated with platelet transfusion : univariate analysis

Annexe

Figure 1: Bradykinin levels in PCs associated with clinically significant hypotension and in controls

Tableau 1 : Justification for First Platelet Transfusion Stated by Ordering Physician (n=60) and Associated Pre- and Post-transfusion Platelet Count

Sigles et Abréviations

AABB: *American Association of Blood Banks*

AUROC: *Area under the receiver operator curve*

ALI: *Acute Lung Injury*

ARDS: *Acute Respiratory Distress Syndrome*

BK: *Bradykinine*

FDA: *Food and Drug Administration*

OR : *Odds ratio*

PICU: *Pediatric Critical Care Unit*

PC: *Platelet concentrate*

PELOD : *Pediatric Logistic Organ Dysfunction score*

PRISM : *Pediatric Risk of Mortality score*

PT : *Platelet transfusion*

RC : *Rapport de cotes*

RIAT: *Rapport Incident-accident Associé aux Transfusions*

TARR: *Transfusion Associated Reaction Reports*

TACO: *Transfusion Associated Circulatory Overload*

TRALI: *Transfusion Related Acute Lung Injury*

À mes parents, sans qui rien n'aurait été possible,

À Yen-I et à Nicolas pour leur soutien inconditionnel

Remerciements

Dr. Jacques Lacroix et Dr. Marisa Tucci, pour leur guidance et expertise

Thierry Ducruet, pour son aide en statistiques

Dr. Laurence Ducharme-Crevier, pour sa motivation et son esprit critique

Introduction

Des plaquettes sont couramment transfusées aux soins intensifs pédiatriques. Elles sont prescrites la plupart du temps pour corriger une thrombocytopénie (compte de plaquettes bas) ou pour contrecarrer une dysfonction plaquettaire. L'objectif de la transfusion est d'éviter des saignements majeurs, notamment les saignements intracrâniens qui peuvent être lourds de conséquences, voire mortels. Or, les transfusions de plaquettes ne sont pas sans risque. Elles sont associées à des risques infectieux.(1,2) Elles sont aussi responsables de nombreuses réactions transfusionnelles, certaines plus graves que d'autres.(3) Par ailleurs, plusieurs nouvelles études ont démontré une association entre les transfusions de plaquettes et une augmentation de la morbidité et de la mortalité, incluant notamment les thromboses veineuses.(4)

À l'heure actuelle, il n'existe aucune ligne de conduite pour guider les intensivistes pédiatriques dans leur décision de transfuser des plaquettes. Il n'existe aucune donnée permettant de savoir à quel compte plaquettaire ou dans quelles circonstances cliniques les bénéfices de transfusions de plaquettes dépassent leurs risques. Leur efficacité reste d'ailleurs à démontrer chez l'enfant critiqueusement malade.

L'objectif de mon projet de maîtrise est de revoir en détail le rôle des transfusions de plaquettes aux soins intensifs pédiatriques en explorant à travers deux articles l'épidémiologie de ces produits sanguins et leurs effets adverses potentiels. Le premier article investigate l'incidence des réactions hypotensives associées aux transfusions de plaquettes, leur importance clinique et leur étiologie. Le deuxième article présente l'épidémiologie et les déterminants des transfusions de plaquettes aux soins intensifs pédiatriques ainsi que leur association potentielle avec une augmentation de morbidité et de mortalité. Pour introduire ces

deux articles, je discuterai d'abord de la thrombocytopénie, l'indication principale des transfusions de plaquettes. Je discuterai de son étiologie, de son incidence ainsi que de ses conséquences sur les enfants critiquement malades. Dans un deuxième temps, je discuterai des transfusions de plaquettes: leur incidence, leurs indications, les effets bénéfiques et adverses potentiels. Je discuterai aussi de la littérature supportant leur usage aux soins intensifs. Après la présentation de mes deux articles, je discuterai des défis associés à la recherche clinique aux soins intensifs et des stratégies potentielles à adopter pour en optimiser la validité interne.

À l'aide de ce mémoire de maîtrise, j'espère offrir aux intensivistes et aux chercheurs davantage d'information sur l'épidémiologie, les pratiques actuelles et les effets adverses potentiels des transfusions de plaquettes. J'espère aussi réussir à mettre en évidence la problématique associée aux transfusions de plaquettes et encourager d'autres chercheurs à poursuivre des travaux dans ce domaine.

Au-delà de cette maîtrise, j'ai espoir d'éventuellement développer des lignes de conduite quant aux indications des transfusions de plaquettes aux soins intensifs pédiatriques.

Chapitre 1: Thrombocytopénie et transfusions des plaquettes

1. Thrombocytopénie

1.1. Définition et étiologies

La thrombocytopénie est définie comme un compte de plaquettes inférieur à $150 \times 10^9/L$.(5) Les causes de thrombocytopénie sont multiples et peuvent s'inscrire dans les quatre catégories suivantes: 1) diminution de la production de plaquettes, 2) augmentation de la destruction périphérique des plaquettes, 3) séquestration splénique et 4) dilution.

Diminution de la production de plaquettes (cause centrale)

Une thrombocytopénie peut être causée par une diminution de la production de plaquettes au niveau de la moelle osseuse. Certaines étiologies sont héréditaires; elles sont plutôt rares. Les formes acquises sont plus fréquentes; elles peuvent résulter soit d'un défaut de production par les mégakaryocytes (*précurseurs des plaquettes*), d'une thrombopoïèse inefficace ou d'une régulation anormale de la thrombopoïèse.(6) Une toxicité médicamenteuse telle que celle associée aux agents de chimiothérapie, aux antimétabolites et à la radiation peut entraîner une suppression complète de la moelle osseuse et une thrombocytopénie prolongée. D'autres agents affectent directement la lignée des mégakaryocytes tels que le chlorothiazide, les estrogènes et l'éthanol. Les infections — particulièrement les infections virales — peuvent causer une thrombocytopénie via plusieurs mécanismes: infection directe des mégakaryocytes, relâche de cytokines supprimant la moelle, production d'anticorps contre les plaquettes, induction d'une hémophagocytose réactive.(6,7)

Augmentation de la destruction périphérique (cause périphérique) :

Cette pathophysiologie inclut des formes immunes et non immunes. Parmi les formes immunes, on inclut le purpura thrombocytopénique idiopathique primaire et secondaire, la thrombocytopénie induite par l'héparine, et la thrombocytopénie néonatale alloimmune. Les formes non immunes inclut le purpura thrombotique thrombocytopénique acquis secondaire à des autoanticorps contre la protéase ADAMTS-13 et la forme congénitale secondaire à une déficience en ADAMTS-13; le syndrome urémique hémolytique classiquement causé par une shiga-toxine produite par l'E.coli 0157:H7 ou par une dysrégulation héréditaire ou acquise de l'activation du complément. La coagulation intravasculaire disséminée résulte en une activation systémique de la cascade de la coagulation et une microangiopathie systémique entraînant une thrombocytopénie et une destruction des globules rouges, un risque d'hémorragies et de thromboses.(6)

1.2 Étiologie et incidence de la thrombocytopénie aux soins intensifs

L'étiologie de la thrombocytopénie aux soins intensifs est souvent multifactorielle, à la fois centrale et périphérique. Une cause périphérique semble impliquée dans plus de 50% des causes de thrombocytopénie aux soins intensifs, alors que des causes de thrombocytopénie centrales isolées sont vues dans moins de 10% des cas.(8) La thrombocytopénie des soins intensifs peut être secondaire à l'infection, à l'inflammation ou à une coagulopathie de consommation.(8,9) Dans une étude prospective de 186 adultes critiquement malades, les causes les plus fréquentes de thrombocytopénie *de novo* étaient 1) la coagulation intravasculaire disséminée durant le sepsis, 2) la thrombocytopénie médicamenteuse, 3) la thrombocytopénie induite par l'héparine et finalement 4) l'insuffisance hépatique.(10) Le sepsis peut entraîner une coagulopathie de consommation, une hémophagocytose, une

hypoplasie de la moelle induite par des médiateurs inflammatoires, une destruction immune et un hypersplénisme. Toutes ces pathologies peuvent participer au processus de thrombocytopénie. La circulation extracorporelle souvent employée pour les chirurgies cardiaques pédiatriques affecte directement le compte plaquettaire et la fonction des plaquettes en causant une agrégation et une destruction des plaquettes dans le circuit.(11) La thrombocytopénie induite à l'héparine est une cause fréquente aux soins intensifs adultes; elle est causée par la création d'anticorps contre le complexe heparin-platelet factor 4.(12) Cette pathologie est un réel problème aux soins intensifs, car cela entraîne des risques de thromboses et oblige l'arrêt immédiat de toute administration de produits contenant de l'héparine.

Une revue systématique publiée dans CHEST rapporte que 13 à 44% des adultes admis aux soins intensifs développent une thrombocytopénie durant leur séjour aux soins intensifs. Les facteurs de risque de thrombocytopénie dans cette étude étaient la sévérité de la maladie, un post-opératoire de chirurgie, l'usage d'inotropes ou de vasopresseurs, la thérapie de remplacement rénal et la dysfonction hépatique.(13) Chez les patients ayant subi un traumatisme, les facteurs de risque de thrombocytopénie étaient l'âge, tout trauma non crânien, la gravité du trauma, la durée de séjour aux soins intensifs et le nombre de transfusions de globules rouges administrées.(14)

L'incidence de la thrombocytopénie aux soins intensifs adultes est bien documentée et est variable d'une unité de soins intensifs à l'autre. Une étude britannique prospective descriptive rapporte une incidence de 12.4% de thrombocytopénie sévère ($<50 \times 10^9/L$) chez des adultes admis dans 29 unités de soins intensifs généraux.(15) Une étude de cohorte menée de 1997 à 2011 dans une unité de soins intensifs incluant 20 696 adultes rapporte une prévalence de 13.3% et une incidence de 7.8%.(13)

Chez les enfants, l'épidémiologie de la thrombocytopénie est moins bien documentée. Une étude rapporte que 20 à 50% des nouveau-nés critiqueusement malades développent une thrombocytopénie dont 5 à 10% atteignent un compte de plaquettes de moins de $50 \times 10^9/L$.(16) Chez les enfants brûlés à plus de 20% de surface corporelle, 82% développent une thrombocytopénie durant la première semaine après leur blessure, et 18% en développeront par la suite.(17) Chez les brûlés, l'étiologie principale de la thrombocytopénie apparue après la première semaine d'hospitalisation est le sepsis.(17)

L'incidence de thrombocytopénie aux soins intensifs est variable selon les études et cela est en partie dû à l'usage d'un seuil différent pour la définition de thrombocytopénie (150 vs. $100 \times 10^9/L$) et aussi en raison de la variabilité des populations étudiées. Nonobstant ces variations, l'incidence de la thrombocytopénie est élevée et est une réelle problématique des soins intensifs. Son association avec une augmentation de la mortalité et de la morbidité a, par ailleurs, été bien démontrée.

1.3 Complications

Thrombocytopénie: association avec la mortalité et la morbidité

Une thrombocytopénie déjà présente au moment de l'admission aux soins intensifs est directement associée à une augmentation de la mortalité.(18) Une étude prospective, observationnelle multicentrique incluant 40 services de soins intensifs adultes de 16 pays a conclu que le compte de plaquettes à l'admission était plus bas chez les non-survivants par rapport aux survivants. Ils ont remarqué que le compte de plaquettes diminue de manière significative dans les premiers jours suivant l'admission jusqu'au 4ème jour, autant chez les survivants que les non survivants. Chez les survivants, le taux de plaquettes remonte après la

première semaine jusqu'à un compte plus élevé qu'à l'admission au jour 9. Chez les non survivants le compte de plaquettes remonte aussi après la première semaine mais ne dépasse pas le taux de l'admission. Une thrombocytopénie persistante est un signe de mauvais pronostic.

Chez les enfants, la thrombocytopénie est associée à une augmentation significative de la mortalité (17.6 vs. 2.47%, $p < 0.001$), à une augmentation du séjour aux soins intensifs (4 jrs vs. 1.6 jrs chez les patients non thrombocytopéniques, $p < 0.001$)(19), ainsi qu'à une augmentation de risque de saignement (34% vs. 15%, $p = 0.01$).(20)

Chez l'adulte, la thrombocytopénie est associée au syndrome de détresse respiratoire aigu (ARDS)(21) ainsi qu'à une augmentation du risque de saignement majeur chez les adultes.(13,20,22–24) Aucune donnée n'existe en pédiatrie sur ces complications.

La thrombocytopénie est associée à plusieurs complications chez les patients critiquement malades. À première vue, il semble logique de corriger cette thrombocytopénie afin de prévenir les complications qui y sont associées. Cependant, ce n'est pas parce qu'on trouve une association qu'il existe un lien de cause à effet. En réalité, on ne sait pas si la transfusion de plaquettes permet réellement de prévenir les complications associées. De plus, il faut réaliser que les transfusions de plaquettes ne sont pas sans risque. En réalité, on ne connaît pas bien les conditions au cours desquelles les bénéfices de transfuser des plaquettes à un enfant thrombocytopénique critiquement malade dépassent les risques associés.

2. Transfusion de plaquettes

2.1 Historique

Dans les années 1960, Gaydos et collègues ont effectué des travaux de recherche sur une cohorte de patients décédés de leucémie. Ils ont constaté à l'autopsie que les patients qui avaient reçu des transfusions de plaquettes avaient moins de saignements que ceux n'en ayant pas reçu : le risque d'hémorragie était quasi absent si le compte plaquettaire était supérieur à $20 \times 10^9/L$. C'est suite à la publication de ces travaux que le compte plaquettaire de $20 \times 10^9/L$ est devenu le seuil transfusionnel le plus couramment utilisé en pratique. (5,25) L'administration de plaquettes en prophylaxie est une pratique standard en hématologie-oncologie depuis les 30 dernières années.(26) C'est aussi devenue une pratique standard en soins intensifs(27), en chirurgie(5) et en traumatologie.(28) Cependant, l'administration préventive de plaquettes est de plus en plus remise en question depuis quelques années.(5,29)

2.2 Rôle de la plaquette

La fonction principale des plaquettes est de maintenir l'hémostase. L'hémostase dépend d'un nombre suffisant de plaquettes fonctionnelles ainsi que des facteurs de coagulation et d'une cascade de la coagulation normale. L'absence de plaquettes fonctionnelles se manifeste par une tendance à saigner de façon démesurée. Les plaquettes sont de petites cellules anucléées, de forme discoïde, dérivées des mégakaryocytes. Leur forme et taille font qu'elles circulent en périphérie des vaisseaux, prêtes à réagir à un bris de l'intégrité de la paroi vasculaire. Une lésion vasculaire entraîne l'exposition du collagène et des protéines sous-endothéliales, notamment du facteur Von Willebrand (fvW). Le complexe G1b/IX/V de la plaquette se lie au facteur de Von Willebrand, ce qui entraîne un ralentissement de la

circulation des plaquettes et un début d'adhésion de celles-ci à la paroi endothéliale. La liaison du collagène au complexe GB VI entraîne une activation des récepteurs GIIb/IIIa et $\alpha 1\beta 2$, ce qui entraîne une adhésion plus solide des plaquettes à la paroi endothéliale. L'adhésion des plaquettes déclenche l'activation d'une série de mécanismes: relâche d'ADP, génération de thromboxane, exposition de phospholipides, production de vésicules procoagulantes et activation du complexe GIIb/IIIa. Ces mécanismes permettent de recruter d'autres plaquettes. Le fibrinogène et le facteur Von Willebrand se lient aux complexes GIIb/IIIa sur chaque plaquette et permet ainsi l'agrégation plaquettaire. L'exposition des phospholipides à la surface des plaquettes supporte la formation de thrombine et de fibrine et solidifie le caillot.(30)

Les plaquettes possèdent aussi d'autres fonctions: notamment la dilatation des vaisseaux, elles augmentent la force et la rétraction des caillots, modulent l'inflammation et participent à la défense contre l'infection et la croissance cellulaire.(30)

2.3 Entreposage des plaquettes

Les concentrés de plaquettes sont entreposés à la température ambiante (environ 21°C) alors que les concentrés érythrocytaires sont entreposés à une température de 4 à 6°C. Une température froide pourrait entraîner des changements dans la morphologie et la durée de survie des plaquettes.(31,32) La période d'entreposage des plaquettes est limitée à 5 jours aux États-Unis et 7 jours en Europe. Cette période d'entreposage est limitée, entre autres, à cause du risque de contamination bactérienne et de la courte durée de vie des plaquettes.(5,33,34)

Bien que la durée de vie des plaquettes chez l'adulte sain soit de 8-10 jours, les conditions d'entreposage des concentrés affectent significativement la durée de vie des plaquettes. Même dans des conditions optimales, l'entreposage entraîne une perte de viabilité progressive, via une augmentation progressive du calcium intracellulaire, une fragmentation

avec augmentation de la formation de microvésicules, une perte de la surface membranaire Gp1B, une diminution du pourcentage de plaquettes ayant une forme discoïde normale, une diminution dans la capacité de répondre au choc hypotonique et une dysfonction mitochondriale.(5)

2.4 Prélèvement

Les plaquettes peuvent être recueillies de deux manières différentes. La première méthode est le processus qu'on appelle *whole blood derived* (dérivé du sang total) ou *random pooled platelets* (plaquettes amassées de façon aléatoire). Les plaquettes sont isolées via la centrifugation du sang total de quatre à six donneurs. La deuxième méthode consiste à collecter les plaquettes par aphérèse du sang total d'un seul donneur. Cette procédure peut permettre d'amasser jusqu'à trois unités de plaquettes à partir d'un seul donneur adulte. Ces plaquettes proviennent donc d'un seul donneur.

L'avantage des *pooled platelets* est que la procédure est moins dispendieuse, plus rapide et simple pour le donneur. Par contre, on expose le récipiendaire à plus d'un donneur et il existe donc un risque accru de transmission d'infections lors de l'administration d'une seule transfusion. L'avantage des plaquettes collectées par aphérèse est que cela limite la transfusion à un donneur. Par ailleurs, on peut offrir des plaquettes de meilleure compatibilité puisqu'elles proviennent d'une seule personne.(5)

2.5 Incidence des transfusions de concentrés plaquettaires aux soins intensifs

L'incidence de transfusions de plaquettes aux soins intensifs est très variable. Chez les adultes gravement malades, deux études rapportent une incidence de 9% à 22.9%. (15,35) Chez l'enfant, l'incidence est mal décrite.(36)

2.6 Efficacité des transfusions de plaquettes

L'objectif des transfusions de plaquettes est d'augmenter le compte plaquettaire afin de prévenir les saignements. Une étude par Lieberman a cherché à déterminer l'efficacité des transfusions de plaquettes à augmenter le compte plaquettaire chez les nouveau-nés, enfants et adultes admis aux soins intensifs. Lieberman a identifié 5 études observationnelles faites chez des adultes en soins intensifs et a démontré que l'augmentation du compte de plaquettes en haut de $100 \times 10^9/L$ de manière soutenue était rarement obtenue.(9) Aucune de ces études n'a rapporté une efficacité des transfusions de plaquettes à prévenir des saignements.(15,35,37–39) Chez les nouveau-nés prématurés, le compte de plaquettes augmente de 50 à $95 \times 10^9/L$ suite à une transfusion dans 3 études.(40–42)xx Une étude randomisée contrôlée n'a pas réussi à démontrer de différence sur l'incidence de saignement intra-ventriculaire avec un seuil de transfusion de $50 \times 10^9/L$ versus $150 \times 10^9/L$ immédiatement après la naissance d'enfants prématurés ayant des poids $500g$ à $1500g$.(42) L'étude randomisée contrôlée PlaNet-2 en cours évalue l'incidence de saignements mineurs et majeurs chez les enfants prématurés de moins de 34 semaines randomisés à des seuils transfusionnels de $25 \times 10^9/L$ et $50 \times 10^9/L$. Les résultats de cette étude pourront nous offrir davantage d'information.(43)

Finalement, dans la population pédiatrique, une étude de cohorte prospective chez les enfants critiqueusement malades n'a rapporté aucune différence de mortalité entre les enfants transfusés et non transfusés.(20)

2.7 Effets adresses associés aux transfusions de concentrés plaquettaires

Les transfusions de plaquettes sont associées à plusieurs réactions adresses. Parmi celles-ci figurent le TRALI (*transfusion related acute lung injury*), le TACO (*transfusion associated circulatory overload*), les réactions fébriles non hémolytiques, les réactions hypotensives aigues isolées, les infections bactériennes et les réactions allergiques. Les infections bactériennes sont plus fréquentes lors des transfusions de plaquettes que des transfusions de globules rouges : 1 infection par 2000 transfusions de plaquettes vs. 1 par 30 000 transfusions de globules rouges.(1,2) Les plaquettes sont entreposées à la température ambiante ce qui augmente le risque de prolifération bactérienne. Le TRALI est une agression pulmonaire d'origine inflammatoire qui se développe dans les 6 heures après l'administration du produit sanguin et qui se manifeste par de l'hypoxémie et des difficultés ventilatoires qui peuvent être sévères voire mortelles. Aux États-Unis, le TRALI est la réaction adresse associée aux transfusions la plus mortelle. xx Dans un rapport émis par la *Food and Drug Administration* (FDA) en 2010, les transfusions de plaquettes étaient responsables de 11% des cas de TRALI ayant causé la mort.(44) Une étude rapporte que les transfusions de plaquettes sont associées au plus haut taux de TRALI par rapport aux transfusions d'autres produits sanguins.(45) Ces réactions semblent aussi plus fréquentes si l'âge des produits plaquettaires est plus élevé, suggérant que l'entreposage de plaquettes augmente la production de cytokines à l'origine de ces réactions.(46) La littérature suggère aussi que l'activation et l'agrégation des plaquettes est altérée de manière significative dans le sepsis, dans *l'acute lung injury* (ALI) et dans le syndrome de détresse respiratoire aigu, ce qui peut entraîner des lésions microvasculaires et des thromboses ainsi que participer à une réponse immune pathologique.(47) Les transfusions de plaquettes ont été associées à un risque isolé de

thromboses veineuses profondes chez les adultes critiquement malades.(4) Certaines études ont aussi suggérée une association avec un prolongement de la durée de ventilation mécanique et du séjour aux soins intensifs.(48–50) Les lésions d’entreposage des plaquettes sont aussi associées à une augmentation des complications. Des plaquettes plus âgées (>3 jours) sont associées à davantage de complications, notamment le sepsis chez des adultes post trauma critiquement malades.(51)[1]

2.8 Réactions hypotensives aiguës isolées

Les réactions hypotensives réfèrent à toutes les réactions transfusionnelles impliquant une chute de tension artérielle incluant par exemple les réactions anaphylactiques avec chute de tension artérielle. Les réactions hypotensives aiguës isolées (*acute isolated hypotensive transfusion reactions*) sont des réactions transfusionnelles hypotensives particulières aux transfusions de plaquettes. Elles impliquent une diminution subite de la tension artérielle survenant dans les quelques minutes après la transfusion et qui disparaît une fois la transfusion arrêtée. La chute de la tension artérielle peut se développer de manière isolée ou être accompagnée de rougeur cutanée (*flushing*) et de symptômes gastro-intestinaux.(3) Ces réactions sont reliées à une transfusion, sont *de novo* et ne se produisent pas dans le contexte d’une réaction anaphylactique. La relâche de bradykinines serait à l’origine de ces réactions transfusionnelles.(52–56) Elles étaient plus fréquentes à une époque où les transfusions de plaquettes étaient déleucocytées via un filtre juste avant d’être administrées au patient (*prestorage leukoreduction*). Le contact des plaquettes avec le filtre entraînait parfois la production de bradykinines responsables de l’hypotension. Depuis les années 1990, à la suite d’un signalement de la FDA, les plaquettes sont déleucocytées avant l’entreposage pour éviter

ces réactions. Ce procédé a significativement diminué l'incidence des réactions hypotensives sans toutefois les éliminer.

L'origine de ces réactions demeure encore incertaine. Quelques études ont soulevé l'hypothèse que l'entreposage en soi des plaquettes pouvait entraîner la production de bradykinines.(57)

Le métabolisme ralenti des bradykinines de certains donneurs pourrait aussi en partie expliquer ces réactions. Certaines études ont démontrés que les patients avec une activité faible de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) avaient des taux plus élevés de bradykinines après avoir reçu une transfusion de plaquettes que d'autres patients avec une activité normale de cette enzyme. Ceci suggère que le métabolisme intrinsèque des bradykinines peut différer selon chaque patient et jouer un rôle dans l'incidence des réactions hypotensives aiguës isolées.(58) Finalement, le métabolite actif de la bradykinine, le des-Arg9-BK serait élevé chez certains patients ayant développé des réactions hypotensives suggérant son rôle dans l'étiologie de ces réactions.(56,59) Les états inflammatoires, tel que le sepsis augmente l'activité de la carboxypeptidase, responsable de la dégradation de bradykinine en des-Arg9-BK.(60–64) L'étiologie et l'incidence des réactions hypotensives aiguës isolées associées aux transfusions de plaquettes sont encore mal élucidées. Leur impact clinique est mal compris.

2.9 Pratiques actuelles des transfusions de concentrés plaquettaires

La majorité des transfusions de plaquettes sont administrées à des patients d'hématologie-oncologie.(65,66) Ces patients ont souvent une suppression de la moelle secondaire à une infiltration néoplasique ou à une toxicité médicamenteuse (chimiothérapie). La plupart du temps les transfusions de plaquettes sont administrées de manière prophylactique afin de prévenir des saignements spontanés. Plusieurs études ont tenté de déterminer les seuils

transfusionnels à adopter dans cette population. Plusieurs études randomisées contrôlées ont démontré que transfuser prophylactiquement des patients avec leucémie aigue ou post transplantation de moelle osseuse à un seuil plaquettaire de 10 000/ μ L était aussi sécuritaire qu'avec un seuil historique de 20 000/ μ L tout en permettant de réduire significativement l'exposition aux transfusions.(67,68) Récemment, des chercheurs ont aussi tenté d'évaluer si l'emploi d'une approche thérapeutique (transfusion en présence de saignement uniquement) plutôt que prophylactique était aussi sécuritaire.(29,69) Ces études ont démontré une augmentation du risque de saignement, plus particulièrement au niveau du système nerveux central(29) chez les patients avec leucémie myéloïde traité dans le groupe thérapeutique.(29,69)[2, 3] À la lumière de ces travaux de recherche, l'*American Association of Blood Banks* (AABB) recommande de transfuser prophylactiquement 1) à un seuil de $10 \times 10^9/L$ les patients hospitalisés avec thrombocytopénie hypoproliférative (induite par la chimiothérapie), 2) à un seuil de $20 \times 10^9/L$ les patients ayant besoin d'un cathéter veineux central 3) à $50 \times 10^9/L$ les patients ayant besoin d'une ponction lombaire ou d'une chirurgie (non intracrânienne).(70,71)

Les indications pour transfuser les patients d'hématologie-oncologie sont claires et sont supportées par plusieurs études.(70,71) Cependant, ces lignes de conduite ne sont malheureusement pas transposables à la population critique ment malade chez qui les mécanismes de thrombocytopénie sont la plupart du temps beaucoup plus complexes et nombreux et le risque de saignement intrinsèque difficilement estimable. Quelques groupes d'experts en soins intensifs ont tenté d'établir des lignes de conduite pour guider les cliniciens dans la prise en charge de ces patients. Cependant, ces recommandations ne sont pas soutenues par la littérature. En Europe, un groupe d'experts de la Société de Réanimation de Langue

Française a publié en 2012 des lignes de conduite pour la prise en charge de la thrombocytopénie aux soins intensifs. Ils recommandent un seuil de $<20 \times 10^9/L$ pour les adultes souffrant d'une thrombocytopénie d'origine centrale. Les patients en hémorragie sévère, les patients avec sepsis sévère, avec un risque de saignement, prenant des anticoagulants, avant une procédure invasive, ou en pré/post opératoire devraient être transfusés si leur compte plaquettaire diminue sous le seuil de $50 \times 10^9/L$. Les patients subissant une chirurgie majeure au cerveau, foie, yeux ou vasculaire ainsi que les polytraumas devraient être transfusés lorsque le compte plaquettaire est inférieur à $100 \times 10^9/L$.(72) En soins intensifs pédiatriques, il n'existe aucune ligne de conduite pour guider les cliniciens dans leur prise en charge.

3. Exposition de la problématique

La thrombocytopénie peut s'avérer délétère, car elle est associée à une augmentation de la mortalité et du risque de saignement chez les patients traités aux soins intensifs. En pédiatrie, plusieurs études ont confirmé ce risque. À première vue, il peut paraître simple de remédier à ce problème en administrant des plaquettes à ces patients; cependant la littérature suggère une association entre les transfusions de plaquettes et un risque augmenté de morbidité.(47–51) Aucun lien de causalité n'a encore été démontré. Cependant plusieurs associations qui pourraient certes être en lien avec les facteurs de risque intrinsèques des patients recevant des transfusions de plaquettes, demeurent inquiétantes. Le compte de plaquettes en bas duquel le risque associé à la thrombocytopénie est supérieur à celui associé aux transfusions de plaquettes est inconnu. La complexité des pathologies observées aux soins intensifs et les causes souvent multifactorielles associées à la thrombocytopénie des soins intensifs rendent

cette population particulièrement difficile à évaluer. La question suivante se pose : dans quel contexte clinique est-il nécessaire de transfuser les enfants critiqueusement malades pour éviter le saignement tout en limitant une exposition non nécessaire à ces produits sanguins?

Dans le prochain chapitre, nous vous présenterons les deux premiers articles d'un programme de recherche qui tentera de répondre à cette question. Le premier article est une étude prospective observationnelle sur l'incidence et l'étiologie des réactions hypotensives associées aux transfusions de plaquettes. Le deuxième article est une étude prospective observationnelle sur les déterminants des transfusions de plaquettes aux soins intensifs et l'association potentielle entre ces transfusions et la morbidité et mortalité.

Chapitre 2: Présentation des deux articles publiés

Nos travaux ont déjà mené à la publication des deux articles suivants :

- Du Pont-Thibodeau G, Robitaille N, Gauvin F, Thibault L, Rivard GE, Lacroix J, Tucci M. Incidence of hypotension and acute hypotensive transfusion reactions following platelets concentrate transfusion. *Vox Sang* 2016;110:150-8
- Du Pont-Thibodeau G, Lacroix J, Ducruet T, Tucci M. Platelet transfusions in pediatric intensive care. *Pediatr Crit Care Med* 2016 Sep ;17(9) :e420-9

Le contenu détaillé de ces deux articles se trouve dans les pages suivantes.

Incidence of hypotension and acute hypotensive transfusion reactions following platelet concentrate transfusions

G. Du Pont-Thibodeau,¹ N. Robitaille,² F. Gauvin,¹ L. Thibault,³ G.-É. Rivard,² J. Lacroix¹ & M. Tucci¹

¹Division of Pediatric Critical Care Medicine, Department of Pediatrics, Sainte-Justine Hospital and Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

²Division of Hematology-Oncology, Department of Pediatrics, Sainte-Justine Hospital and Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

³Research and development, Héma-Québec, Québec city, QC, Canada

Vox Sanguinis

Background and objectives Platelet concentrates (PCs) are associated with transfusion reactions involving hypotension, particularly bradykinin-mediated acute hypotensive transfusion reactions. This study aims to determine the incidence of hypotensive events and more specifically acute hypotensive transfusion reaction associated with PC transfusions. We also sought to ascertain whether these reactions are associated with elevated bradykinin levels.

Materials and Methods This is a prospective descriptive study of PCs administered at Sainte-Justine Hospital over 28 months. All PCs administered during this period were screened for hypotension through review of all transfusion-associated reaction reports (TARRs) sent to the blood bank. All residual PC bags were returned to the blood bank. TARRs associated with hypotension were reviewed by adjudicators that established the imputability of the PC transfusion to the reaction. Bradykinin levels were sampled in the first 168 PC bags returned to the blood bank. Levels were compared between PCs associated with hypotension and control PCs not associated with hypotension.

Results A total of 3672 PC bags were returned to the blood bank; 25 PCs were associated with hypotension. Adjudicators ascertained that five hypotensive events were imputable to PCs of which one was an acute hypotensive transfusion reaction (incidence: 0.03%). Bradykinin level in the latter PC was 10 pg/ml, whereas levels were 226.2 ± 1252 pg/ml in the 143 control PCs.

Conclusion Our results show a low incidence of hypotension after PC transfusion. We identified only one acute hypotensive transfusion reaction. No correlation between bradykinin level and the occurrence of acute hypotensive reactions could be observed given that only one event was identified.

Key words: platelet concentrates, platelet transfusion, transfusion reactions.

Received: 31 March 2015,

revised 8 August 2015,

accepted 10 August 2015,

published online 21 September 2015

Introduction

Platelet concentrates (PCs) are the blood products most commonly associated with transfusion reactions [1]. These reactions can include bacterial contamination, acute haemolysis, transfusion-related acute lung injury and anaphylaxis [2] and can be associated with clinically significant hypotension. Hypotension can also occur alone

after PC transfusion, and this particular reaction, referred to as acute hypotensive transfusion reaction [2] or an isolated hypotensive event [3], has been reported to involve bradykinin (BK) and its metabolite des-Arg9-bradykinin (des-Arg9-BK) [4–8]. The latter reactions were more frequently reported in association with bedside leucoreduction which was believed to promote bradykinin release [9]. Acute hypotensive transfusion reactions involve a drop in blood pressure that occurs rapidly after the start of the transfusion (within minutes) and resolves rapidly after cessation of transfusion. Hypotension is usually the sole manifestation, but flushing and gastrointestinal

Correspondence: Marisa Tucci, CHU Sainte-Justine, room 3405, 3175, Chemin Côte-Sainte-Catherine, Montréal QC H3T 1C5, Canada
E-mail: marisa.tucci@recherche-ste-justine.qc.ca

symptoms may occur [3, 10]. The reported incidence of acute transfusion hypotensive reaction has decreased since the introduction of prestorage blood leucoreduction, but has not completely disappeared. Preliminary data suggest that despite leucoreduction being performed prior to storage, the procedures used to prepare and store PCs can themselves enhance *in vitro* generation of vasoactive kinins [11]. It is possible that kinins accumulate in PCs during storage in quantities that could induce hypotension in recipients, particularly those with certain genetic, pharmacologic and/or clinical predispositions [11]. Several factors, such as PC storage time, contact with negatively charged filter surfaces, contact with endothelial cells or the platelets themselves, can trigger kinin generation resulting in an inflammatory response with associated vasodilation mediated via bradykinin-2 (B2) receptors [12–14]. Angiotensin conversion enzyme mediates the breakdown of BK, and patients on ACE inhibitors have been found to have an increased risk of acute hypotensive transfusion reactions [5, 9, 15–17].

This study aimed (i) to determine the incidence of hypotensive events and more specifically the incidence of acute hypotensive transfusion reactions associated with PCs through an adjudication process and (ii) to measure and compare bradykinin levels in PCs that were associated with acute hypotensive transfusion reactions with bradykinin levels in PCs that were not associated with hypotension.

Material and methods

This prospective descriptive single-centre study was undertaken at Sainte-Justine Hospital, a university-affiliated tertiary-care mother and child hospital.

Routine procedure during any transfusion at the CHU Sainte-Justine

Transfusion policy for all blood products at Sainte-Justine Hospital involves adherence to a hospital algorithm and systematic clinical monitoring that includes vital sign assessment prior to transfusion, bedside presence of certified nursing personnel during the first 15 min of transfusion, and regular assessment of vital signs during the transfusion and up to 4 h after transfusion. Appearance of any unusual signs and/or symptoms warrants discontinuation of transfusion. When such signs or symptoms are observed during the monitoring period, the treating physician and the blood bank are immediately notified, the blood product is returned to the blood bank and an incident report (TARR; *transfusion-associated reaction report*) is completed. All data from the TARRs are then entered into (Traceline Mak-system, Paris, France), the integrated

patient care management software designed to ensure complete traceability of all transfused blood products and of all transfusion recipients in the Province of Québec. Data collected in the TARR include ABO/Rh group, polyspecific direct antiglobulin, IgG direct antiglobulin test (DAT; or Coombs' test) and urine testing for presence of haemoglobin; if haemolysis is suspected, an antibody screen is done which warrants antibody identification if positive.

PC sample collection

In order to ensure that no PC transfusions were missed, a screening log was kept at the blood bank through the Traceline database for all PCs delivered to patients at Sainte-Justine Hospital (adult women and children, inpatient or outpatient). During the study period, regardless of the occurrence of a transfusion-associated reaction, all tubing, filters and residual product of any blood transfusion were systematically returned to the blood bank after transfusion. Blood bank technicians were instructed to collect, identify and store 5 mL from all PC bags returned to the blood bank during the study period.

Processes specific to the study

Figure 1 shows the processes specific to the study. Only PC transfusions were evaluated. When a TARR was filled out and sent to the blood bank after PC transfusion, the transfusion safety officer reviewed the hospital chart to ascertain whether hypotension was a feature of the transfusion reaction reported. If a PC-associated hypotensive event was reported in the TARR, adjudicators were required to review the medical chart in order to ascertain the clinical significance of the hypotension event and to confirm imputability of the event to the PC transfusion (see next section). After adjudication, hypotensive events were classified as either (i) not imputable to PC transfusion or not clinically significant or (ii) clinically significant and imputable to PC transfusion. BK levels were measured in all the PCs involved and attributed to one of these 2 groups after adjudication was completed.

BK levels were consecutively measured in the first 168 PC bags returned to the blood bank after administration. Control PCs were products that were returned to the blood bank and that were not associated with hypotension. Control PCs included the bags that were returned with no TARR filled out or with a TARR filled out but no PC-associated hypotensive event reported. (Fig. 1).

Adjudication process and data collection

Medical charts of patients who developed a PC-associated hypotension were reviewed by the adjudication committee

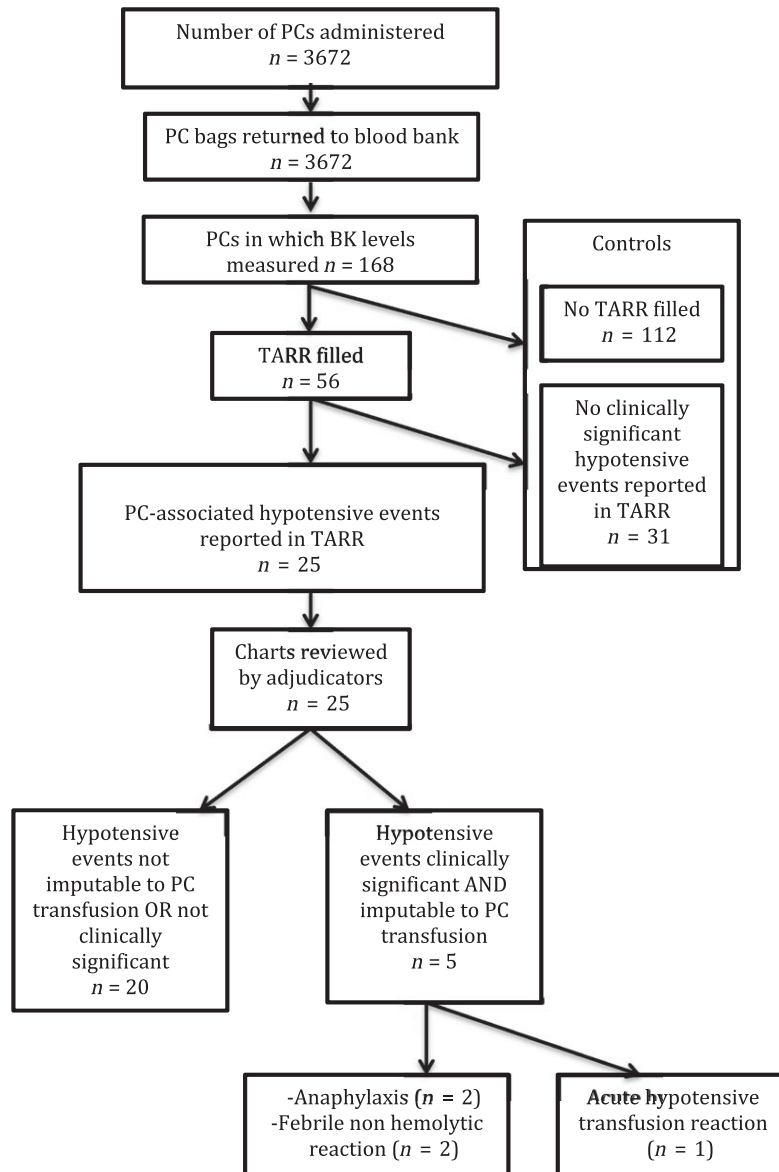


Fig. 1 Study processes to ascertain samples associated with acute hypotensive reactions versus control samples. BK levels were measured in 1 PC deemed to have caused an acute hypotensive transfusion reaction, in 4 PCs that caused clinically significant hypotension imputable to the transfusion as part of a clinical spectrum for other types of transfusion reactions (anaphylaxis, febrile non-haemolytic reaction), and in 20 PCs that were not retained by the adjudicators because they did not involve hypotension imputable to the PC transfusion or the hypotension was not clinically significant hypotension. The control group included BK levels measured in 143 PCs that were consecutively sampled and returned to the blood bank with no TARR filled out or with a TARR filled out but no PC-associated hypotensive event reported. PC, platelet concentrate; TARR, *transfusion-associated reaction report*; BK, bradykinin.

that was comprised by three experts in critical care or in transfusion medicine. Adjudicators were asked to independently analyse medical charts of patients with a PC-associated hypotension in order to determine whether the event was clinically significant and to ascertain imputability if applicable. They were also asked to determine the type of transfusion reaction that may have occurred and identify those cases of acute hypotensive transfusion reactions. Signs and symptoms associated with transfusion reactions as well as the definitions of transfusion reactions as defined by Gauvin *et al.* and by the Quebec haemovigilance system were provided for reference [3, 10]. Significant hypotension was defined as: (i) a decrease in blood pressure (BP) <5th percentile for age

or systolic BP <2 standard deviation (SD) below normal for age during PC transfusion and up to 4 h after the end of PC transfusion or (ii) a drop in BP >20 mmHg in any patient during PC transfusion and up to 4 h after the end of PC transfusion or (iii) new need or increase by 10% or more of the dose of any vasoactive drug to maintain BP in normal range (dopamine >5 g/kg/min or dobutamine, epinephrine, or norepinephrine at any dose during PC transfusion and up to 4 h after the end of PC transfusion). If an adjudicator considered that a significant PC-associated hypotension had occurred, he was asked to ascertain whether this event was attributable to the PC transfusion or whether another cause was present (e.g. administration of hypotensive medication prior to transfusion reaction,

Table 1 Degree of imputability of the reaction to the PC transfusion

Certain	A clinical or biological reaction that happens within a delay compatible with the administration of a blood product and the investigation (laboratory test, obvious clinical symptoms, etc.) proves the imputability to the transfusion.
Probable	A clinical or biological reaction that happens within a delay compatible with the administration of a blood product. The reaction cannot be better explained by any other cause than the transfusion.
Possible	A clinical or biological reaction that happens within a delay compatible with the administration of a blood product but that can also be explained by a cause other than the transfusion (intercurrent illness, medication, etc.)
Doubtful	A clinical or biological reaction that happens within a delay compatible with the administration of a blood product but for which there is a more likely other cause than the transfusion or for which there are contradictory signs.
Indeterminate	A clinical or biological reaction that happens within a delay compatible with the administration of a blood product, but information is lacking to attribute a diagnosis.

acute blood loss, sepsis). Table 1 describes the level of imputability that adjudicators could choose to allocate to each hypotensive event. Hypotension was considered imputable to the PC transfusion if a category of certain, probable or possible was chosen by the adjudicator.

Consensus was defined as agreement between all three experts with regard to imputability. If all three experts did not agree, charts were independently sent to the adjudicators for a second review, followed by a face-to-face meeting during which the adjudication committee members attempted to reach unanimous agreement. Cases that did not reach unanimity were rejected, and BK levels in this group were analysed separately. Adjudicators were kept unaware of the results of the BK measurements.

Medical charts of patients for whom the TARR reported a PC-associated hypotension were also reviewed for some additional information (ACE inhibitor administration).

Bradykinin level measurement

BK levels were measured only in residual PC products. All PCs in the study were sampled for BK levels including controls and PCs associated with hypotension as reported in the TARRs. No attempt was made to ascertain whether BK levels were elevated in patient serum because very rapid BK degradation *in vivo* would have required that blood samples be collected within 2–3 min after the hypotensive event.

Upon reception, blood bank technicians were instructed to collect 0.2–5 ml from all returned PC bags. Samples were immediately added to 0.8–20 ml of cold anhydrous ethanol (Commercial Alcohols, Boucherville, Canada) at a final concentration of 80% to stop the generation and degradation of kinins in PC samples. After an incubation of 1 h at 4°C to allow complete precipitation of proteins, the ethanolic PC samples were stored at <−80°C. Prior to

analysis, samples were centrifuged at 8000 g for 10 min, supernatants were decanted, and samples were evaporated to dryness in a concentrator (Speed Vac, Savant, Farmingdale, NY, USA). Dry extracts were next dissolved in 50 mM Tris–HCl pH 7.4 containing 100 mM NaCl, 0.05 % Tween 20 (assay buffer). After dissolution, BK levels were measured using a standardized competitive enzyme immunoassay adapted from Moreau *et al.* [11]. This standardized immunoassay ELISA has a limit of detection of 23 pg/ml of BK. Intra-assay and interassay variations were <5% and <13%, respectively. The assay specificity was 100% for BK, Lys-BK, biotinyl-BK, des-Arg1-BK, Tyr0-BK and the BK4-9. BK5-9 was partially recognized by the assay (40%) while other kinin metabolites such as des-Arg9-BK, BK7-9, BK potentiator B, angiotensin II, substance P, endothelin I and met-enkephalin were not detected in the assay. For BKs quantification, samples were serially diluted in the assay buffer and five dilutions (from neat, 1:4 to 1:256) and biotin-labelled BK (Anaspec, Fremont, United States) were allowed to react with rabbit anti-BK antibodies (Peninsula Laboratories, San Carlos, United States) captured in wells of a flat-bottom microplate coated (Thermo Scientific, Rochester, NY, USA) with goat anti-rabbit IgG antibody (Jackson ImmunoResearch Laboratories Inc., West Grove, PA, USA). A standard curve was prepared on the same microplate with 10 BK (Bachem, Bubendorf, Switzerland) concentrations (0, 1.2, 2.4, 4.7, 9.4, 18.8, 38, 74, 150 and 300 pg/well). After incubation with streptavidin-labelled horseradish peroxidase (Jackson ImmunoResearch Laboratories Inc.) and addition of 3,5,5-tetramethylbenzidine (TMB) (ScyTek Laboratories Inc., Logan, UT, USA), the microplate was read at 450 nm. Results are expressed as picogram per millilitre concentration in plasma. BK quantification was done in four series of experiments. Blood technicians that performed the BK levels were blinded.

Ethical considerations

Institutional review board approval was obtained for this pilot study. This study was done in the context of a standard monitoring system of all possible transfusion reactions at Sainte-Justine Hospital. The board waived consent because the study required no intervention in participants.

Statistical analysis

While planning the study, we expected to sample a minimum of 20 PC bags with a positive transfusion reaction during the study period. This expectation was based on the annual estimated incidence of transfusion reactions occurring at Sainte-Justine Hospital (15–20/year hypotensive reactions, 5–10/year major allergic reactions, 50–100/year minor allergic reactions and >100/year febrile non-haemolytic reactions) during the prior 3 years. For every PC having potentially caused a hypotensive event, we sampled 4 PCs that did not cause any hypotensive

event. BK levels are presented as mean \pm standard error of the mean (SEM).

The validated database was exported to a computer at the Research Center of CHU Sainte-Justine. Data were analysed at the Methods Center on a PC running the statistical software SAS.

Results

Between September 1st 2008 and January 31st 2011, 3672 PCs were dispensed from the hospital blood bank. The majority of transfusions were administered in the intensive care unit and in haematology–oncology wards and clinics. BK levels were measured in 168 of 3672 PCs returned to the blood bank (Fig. 2). In all, 56 TARRs were filled out during the study period subsequent to a PC transfusion, among which 25 TARRs were retained for review by the adjudicators because a PC-associated hypotension was reported. After first revision, there was unanimous agreement within the adjudication committee that 3 cases presented hypotension imputable to the PC

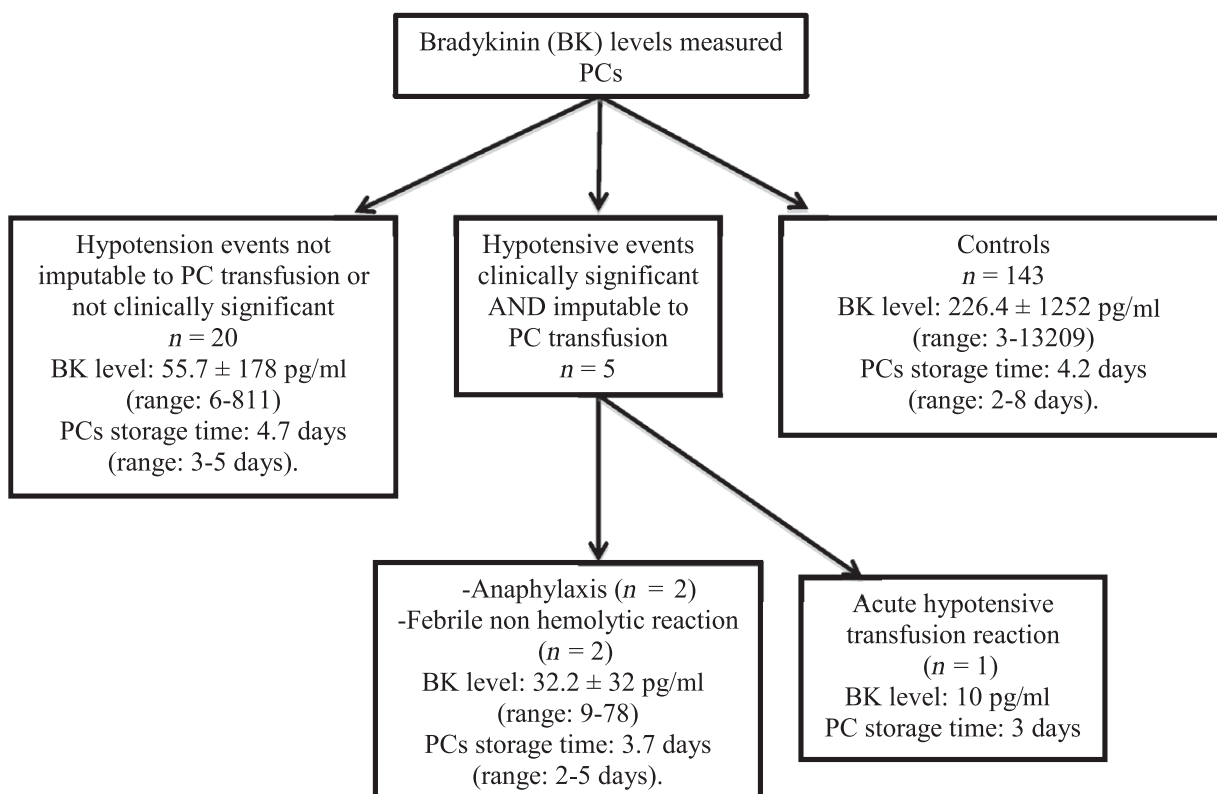


Fig. 2 BK levels in PCs associated with clinically significant hypotension and in controls. BK levels measured in the control group ($n = 143$), in the group of clinically significant hypotension imputable to PC transfusion ($n = 5$) and in the group of PCs that either caused a clinically significant hypotension deemed not imputable to the PC transfusion or that did not cause a clinically significant hypotension after revision by the adjudicators ($n = 20$). PC, platelet concentrate.

transfusion and that for 17 cases no significant hypotension occurred within the 4 h after PC transfusion. Adjudicators disagreed on imputability between PC transfusion and a hypotension for 5 cases. These 5 cases underwent a second revision after which 2 cases were retained once unanimous agreement was attained and 3 cases were rejected because unanimous agreement could not be reached. In total, 20 hypotensive events were deemed either not imputable to PC transfusion or not clinically significant and 5 cases were retained as clinically significant hypotension imputable to the PC transfusion. The incidence rate of PC-associated hypotension was 0.14% (5/3672 PCs transfused).

Among the latter 5 events, adjudicators deemed that 2 cases were anaphylaxis, 2 were febrile non-haemolytic reactions, and one was an acute hypotensive transfusion reaction. Recipient demographic data for all 5 cases of hypotensive events are presented in Table 2. Figure 2 illustrates BK levels measured in each group. The BK level in the PC that was associated with acute hypotensive transfusion reaction was 10 pg/ml. The recipient's reaction is described in the clinical vignette. The average BK level in the 4 cases that were associated with a clinically significant hypotension in the context of anaphylaxis or febrile haemolytic reaction was 32.2 ± 32 pg/ml (range 9–78). The average BK level in the 20 cases that were not retained by the adjudicators because the hypotension was not deemed imputable to the PC transfusion was 55.7 ± 178 pg/ml (range 6–811).

The control group comprised PCs returned to the blood bank that did not cause any hypotension ($n = 143$). Control PCs included the first 143 bags that were returned with no TARR filled out ($n = 112$) or with a TARR filled out but no PC-associated hypotensive event reported ($n = 31$). The average bradykinin level in these control samples was 226.4 ± 1252 pg/ml (range: 3–13209).

Storage times for each group are reported in Fig. 2. Only one patient in the control group, and none of those who developed hypotension, was on angiotensin-converting enzyme inhibitors at the time of the PC transfusion.

Discussion

The objective of this study was to determine the overall incidence of hypotensive events following transfusion of PCs and more specifically the incidence of acute hypotensive transfusion reaction and its relationship with BK. The adjudication committee identified 5 instances of clinically significant hypotension subsequent to transfusion of 3762 PCs during the study period. The majority of these hypotensive events occurred as part of a clinical spectrum comprising different types of transfusion reactions (anaphylaxis, febrile non-haemolytic reaction). Only one event was deemed to be an acute hypotensive transfusion reaction (estimated incidence rate of 2.6 events per 10 000 PCs transfused). It was not possible to determine whether an association exists between BK levels and the occurrence of acute hypotensive transfusion reaction given that only one event was identified.

In this study, hypotension attributable to PC transfusion was identified after careful screening by an adjudication committee who undertook a detailed medical chart review as well as an independent adjudication process using well-defined criteria. This rigorous methodology allowed for a distinction to be made between hypotension that was secondary to PC transfusion and that secondary to other aetiologies.

Over the last decade, there have been several reports of acute hypotensive transfusion reactions related to PC transfusions when using negatively charged bedside leucoreduction [5, 9, 15–18]. Contact of platelets with negatively charged filters was thought to activate the

Table 2 Recipient demographic data for all five cases of hypotensive events

Age	Underlying condition/setting	Indication for transfusion
17 years	Hodgkin's lymphoma, post-bone marrow transplant, clinic visit	Thrombocytopenia No active bleeding
3 years	Wilms tumour, clinic visit	Thrombocytopenia No active bleeding
15 years	Primitive neuroectodermal tumour (PNET), clinic visit	Thrombocytopenia No active bleeding
12 years	Acute lymphoblastic leukaemia, post-bone marrow transplant, clinic visit	Thrombocytopenia No active bleeding
19 years	Neuroblastoma post-bone marrow transplant, hospital admission for fever, workup for infection and mucositis management	Thrombocytopenia No active bleeding

kinin–kallikrein pathway responsible for the generation of BK, which then induces hypotension. In the 1990s, the US Food and Drug Administration issued a warning against bedside filtration and recommended leucoreduction be performed prior to storage [19, 20]. Prestorage leucoreduction is now standard practice in many countries [7, 21–23].

Although changes in leucoreduction practices have resulted in a significant decrease in the incidence of acute hypotensive transfusion reactions [7, 21–23], events are still reported [7, 24–26]. Storage of PCs appears to enhance BK production [11]. Activation of the contact system and activation of fibrinolysis through filtration and storage were suggested as possible mechanisms that can trigger BK production and may explain why we continue to report acute hypotensive transfusion reactions in association with PC transfusion in certain patients [11, 17, 27, 28].

The incidence rate of these reactions is, however, not well characterized in the literature. Table 3 summarizes the results of 3 studies that measured the incidence of acute hypotensive transfusion reactions after administration of all types of blood products [3, 21, 29]. The incidence rates associated with platelet transfusions in these studies were quite variable. Factors that may explain this include differences in the populations studied, in the reporting system employed and in the design of each study (retrospective vs. prospective).

It was unfortunately not possible to determine whether an association exists between BK levels and the incidence of these events given that only one was identified. We screened events through review of all TARRs that were submitted by the clinical team to the blood bank after the event occurred. Failure to recognize events, incomplete chart records and passive surveillance might have all lead to the underestimation of the true incidence of these events. In future studies, a more active and prospective surveillance system might increase our detection rate. Furthermore, performing a multicentre study might also increase our yield at detecting these events.

It is still unclear whether acute transfusion reactions are caused by donor-related, recipient-related or transfusion-related characteristics. In our study, there was a wide variability in the bradykinin levels measured in all groups. Moreau's study demonstrated a similar variability that could not be explained by differences in the levels of metalloproteinases responsible for BK degradation [11]. This variability suggests potential differences in the kinin-forming capacity of donor plasma that could not be appreciated with only one positive event. Donor characteristics may play a role in the incidence of these reactions. Furthermore, bradykinin levels were measured in residual product obtained from PC bags after their return to the blood bank. Although ideal, we did not measure BK in patient blood at the time of the event. This would have been a challenge given the very short half-life of bradykinin and the necessity to sample patients within minutes of the hypotensive event. Studies have shown that patients with low measured ACE activity have persistently higher BK levels after PC transfusion than those with normal ACE activity, suggesting that the patient's intrinsic bradykinin metabolism might play a role in the incidence of acute hypotensive transfusion reactions [30]. Finally, we did not measure levels of des-Arg9-BK, a bradykinin-active metabolite. Its half-life in patients with hypotensive events has been shown to be higher than in normal controls, suggesting that des-Arg9-BK might play a role in these events [4, 5]. Inflammatory states increase carboxypeptidase activity which is responsible for the degradation of bradykinin into des-Arg9-BK and also increase the expression of its receptor (BR-1) which mediates a similar reaction to that of bradykinin [31–35]. It is conceivable that patients who presented an acute hypotensive transfusion reaction may have had higher carboxypeptidase activity than those who did not. Many studies report a higher incidence of acute hypotensive transfusion reactions in patients on ACE inhibitors because these drugs prolong bradykinin half-life. In our study, none of the patients who presented a clinically significant hypotensive event imputable to PC transfusion

Table 3 Studies measuring incidence of acute hypotensive transfusion reactions

Authors and study design	Study period	Population and Setting	Incidence
Robillard <i>et al.</i> [21] <i>Quebec hemovigilance reporting system</i>	2000–2001 (2 years)	43 blood banks in Quebec	1.8 cases/100 000 all blood products transfusions ^a 1.2 cases/10 000 transfused plts
Gauvin <i>et al.</i> [3] <i>Single-centre prospective study</i>	2002–2004 (2 years)	Paediatric intensive care unit	4 cases/2509 all blood products transfusions At least 3/4 events occurred after plt transfusion
Li <i>et al.</i> [29] <i>Single-centre retrospective study</i>	2010–2011 (1 year)	Hospitalized paediatric patients	1 case/100 plt transfusions

plts; platelets, yrs; years.

^aAll blood products include red cell, platelet and fresh-frozen plasma transfusions.

was using ACE inhibitors, which may have contributed to the low number of hypotensive events observed.

Future studies are required to look into the specific implications of patients' intrinsic kinin metabolism (patient-related reaction), donor kinin-forming capacity (donor-related) and des-Arg9-BK metabolite (transfusion-related) in the occurrence of these reactions.

Our study has limitations. We did not have access to donors demographic data. This could have allowed us to investigate for a relationship between donor characteristics and acute hypotensive transfusion reactions. Furthermore, we identified only a very small number of events. This significantly affected the power to detect a significant difference between groups. Finally, we did not measure the time elapsed between the appearance of hypotension and the sampling of PC bags for BK levels at the blood bank. Delays in storing could have modified our BK results. Despite these limits, we believe this study does provide some valuable information. Eighty per cent (20 of 25) of hypotensive events reported in the TARRs were not retained by the expert adjudicators as clinically significant or imputable to the PC transfusion. Assessment of clinically significant events occurring after PC transfusion and imputability to the transfusion done with rigour and by medical experts is essential to minimize over-reporting of hypotensive events. Moreover, acute hypotensive transfusion reactions occurred rarely. An association between BK levels and these events could not be determined given this low incidence.

Conclusions

The incidence of PC-related hypotension and more specifically of acute hypotensive transfusion reaction is low. It was not possible to determine whether an association existed between BK levels and the incidence of these latter reactions given that only one event was reported.

References

- Oakley FD, Woods M, Arnold S, *et al.*: Transfusion reactions in pediatric compared with adult patients: a look at rate, reaction type, and associated products. *Transfusion* 2015; 55:563–570
- Popovsky M: *Transfusion reactions*. Bethesda, AABB Press, 2001
- Gauvin F, Lacroix J, Robillard P, *et al.*: Acute transfusion reactions in the pediatric intensive care unit. *Transfusion* 2006; 46:1899–1908
- Cyr M, Eastlund T, Blais C, *et al.*: Bradykinin metabolism and hypotensive transfusion reactions. *Transfusion* 2001; 41:136–150
- Cyr M, Hume HA, Champagne M, *et al.*: Anomaly of the des-Arg9-bradykinin metabolism associated with severe hypotensive reactions during blood transfusions: a preliminary study. *Transfusion* 1999; 39:1084–1088
- Takahashi TA, Abe H, Hosoda M, *et al.*: Bradykinin generation during filtration of platelet concentrates with a white cell-reduction filter. *Transfusion* 1995; 35:967
- Arnold DM, Molinaro G, Warkentin TE, *et al.*: Hypotensive transfusion reactions can occur with blood products that are leukoreduced before storage. *Transfusion* 2004; 44:1361–1366
- Hild M, Söderström T, Egberg N, *et al.*: Kinetics of bradykinin levels during and after leucocyte filtration of platelet concentrates. *Vox Sang* 1998; 75:18–25
- Gauvin F, Toledano B, Hume HA, *et al.*: Hypotensive reactions associated with platelet transfusion through leucocyte reduction filters. *Intensive Care Med* 2000; 15:329–332

Rigorous assessment of these transfusion complications is warranted. Future studies should explore other possible aetiologies, such as measurement of des-Arg9-BK levels and ACE activity in recipients that may explain the mechanisms underlying acute hypotensive transfusion reactions.

Acknowledgments

We would like to thank all the blood bank personnel (Marie-Hélène Robert, Cathy Houde, Anne-Marie Girouard) who participated in the study with special attention to Marie-Pierre Pelletier who helped us with data collection. We thank our research staff, in particular Mariana Dumitrascu who reviewed patient charts. We would also like to thank Thierry Ducruet, the biostatistician who reviewed our calculations.

Dr. G Du Pont-Thibodeau has substantially contributed to the acquisition, analysis and interpretation of data for the work as well as drafting of the manuscript. All other authors have substantially contributed to the research design, the interpretation of the data and the critical review of the manuscript. Dr. Gauvin, Dr. Robitaille and Dr. Tucci participated to the adjudication committee. All authors have approved the submitted and final version.

Funding

This study was supported by The Bayer-Talecris Canadian Blood Services-Héma Québec Partnership Fund.

Conflict of interests

The authors have disclosed that they do not have any potential conflict of interests.

- 10 Ministère de Santé et Services Sociaux du Québec. 2006. Guide de l'utilisateur du logiciel RIAT en ligne: volet clinique. Québec: Gouvernement du Québec.
- 11 Moreau ME, Thibault L, Desormeaux A, *et al.*: Generation of kinins during preparation and storage of whole blood-derived platelet concentrates. *Transfusion* 2007; 47:410–420
- 12 Gustafson EJ, Schutsky D, Knight LC, *et al.*: High molecular weight kininogen binds to unstimulated platelets. *J Clin Invest* 1986; 78:310–318
- 13 Schmaier AH: Plasma contact activation: a revised hypothesis. *Biol Res* 1998; 31:251–262
- 14 van Iwaarden F, de Groot PG, Bouma BN: The binding of high molecular weight kininogen to cultured human endothelial cells. *J Biol Chem* 1988; 263:4698–4703
- 15 Mair B, Leparé GF: Hypotensive reactions associated with platelet transfusions and angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Vox Sang* 1998; 74:27–30
- 16 Fried MR, Eastlund T, Christie B, *et al.*: Hypotensive reactions to white cell-reduced plasma in a patient undergoing angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy. *Transfusion* 1996; 36:900–903
- 17 Sano H, Koga Y, Hamasaki K, *et al.*: Anaphylaxis associated with white-cell reduction filter. *Lancet* 1996; 347:1053
- 18 Kalra A, Palaniswamy C, Patel R, *et al.*: Acute hypotensive transfusion reaction with concomitant use of angiotensin-converting enzyme inhibitors: a case report and review of the literature. *Am J Ther* 2012; 19:e90–e94
- 19 Zoon KC, Jacobson ED, Woodcock J: Hypotension and bedside leukocyte reduction filters. *Int J Trauma Nurs* 1999; 5:121–122
- 20 Adverse reactions to platelet transfusions reported: *Blood Bank Week* 1993; 10:1–2
- 21 Robillard P, Nawej KI, Jochem K: The Quebec hemovigilance system: description and results from the first two years. *Transfus Apher Sci* 2004; 31:111–122
- 22 Seftel MD, Grove GH, Petraszko T, *et al.*: Universal prestorage leukoreduction in Canada decreases platelet alloimmunization and refractoriness. *Blood* 2004; 103:333–339
- 23 Paglino JC, Pomper GJ, Fisch GS, *et al.*: Reduction of febrile but not allergic reactions to RBCs and platelets after conversion to universal prestorage leukoreduction. *Transfusion* 2004; 44:16–24
- 24 Belloni M, Alghisi A, Bettini C, *et al.*: Hypotensive reactions associated with white cell-reduced apheresis platelet concentrates in patients not receiving ACE Inhibitors. *Transfusion* 1998; 38:412–415
- 25 Crews WS Jr, Kay JK, Herman JH: Washed RBCs prevent recurrent acute hypotensive transfusion reactions. *Am J Clin Pathol* 2014; 141:285–287
- 26 Pagano MB, Ness PM, Chajewski OS, *et al.*: Hypotensive transfusion reactions in the era of prestorage leukoreduction. *Transfusion* 2015; 55:1668–1674
- 27 Ewald GA, Eisenberg PR: Plasmin-mediated activation of contact system in response to pharmacological thrombolysis. *Circulation* 1995; 91:28–36
- 28 Kleniewski J, Blankenship DT, Cardin AD, *et al.*: Mechanism of enhanced kinin release from high molecular weight kininogen by plasma kallikrein after its exposure to plasmin. *J Lab Clin Med* 1992; 120:129–139
- 29 Li N, Williams L, Zhou Z, *et al.*: Incidence of acute transfusion reactions to platelets in hospitalized pediatric patients based on the US hemovigilance reporting system. *Transfusion* 2014; 54:1666–1672
- 30 Owen HG, Brecher ME: Atypical reactions associated with use of angiotensin-converting enzyme inhibitors and apheresis. *Transfusion* 1994; 34:891–894
- 31 Campos MM, Souza GE, Calixto JB: Upregulation of B1 receptor mediating des-Arg9-BK-induced rat paw oedema by systemic treatment with bacterial endotoxin. *Br J Pharmacol* 1996; 117:793–798
- 32 Cruwys SC, Garrett NE, Perkins MN, *et al.*: The role of bradykinin B1 receptors in the maintenance of intra-articular plasma extravasation in chronic antigen-induced arthritis. *Br J Pharmacol* 1994; 113:940–944
- 33 Oh-ishi S, Tokumasu T, Ueno A: Induction of a B1-receptor mediating hypotensive response in young brown Norway rats. *Immunopharmacology* 1996; 33:101–103
- 34 Blais C Jr, Marc-Aurèle J, Simmons WH, *et al.*: Des-Arg9-bradykinin metabolism in patients who presented hypersensitivity reactions during hemodialysis: role of serum ACE and aminopeptidase P. *Peptides* 1999; 20:421–430
- 35 Vianna RM, Calixto JB: Characterization of the receptor and the mechanisms underlying the inflammatory response induced by des-Arg9-BK in mouse pleurisy. *Br J Pharmacol* 1998; 123:281–291

Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:
Data S1. Clinical vignette: Recipient with acute hypotensive transfusion reaction.

Platelet Transfusions in Pediatric Intensive Care*

Geneviève Du Pont-Thibodeau, MD¹; Marisa Tucci, MD, FRCPC, FAAP¹; Nancy Robitaille, MD²; Thierry Ducruet, MSc³; Jacques Lacroix, MD, FRCPC¹

Objectives: To characterize the determinants of platelet transfusion in a PICU and determine whether there exists an association between platelet transfusion and adverse outcomes.

Design: Prospective observational single center study, combined with a self-administered survey.

Setting: PICU of Sainte-Justine Hospital, a university-affiliated tertiary care institution.

Patients: All children admitted to the PICU from April 2009 to April 2010.

Intervention: None.

Measurements and Main Results: Among 842 consecutive PICU admissions, 60 patients (7.1%) received at least one platelet transfusion while in PICU. In the univariate analysis, significant determinants for platelet transfusion were admission Pediatric Risk of Mortality Score greater than 10 (odds ratio, 6.80; 95% CI, 2.5–18.3; $p < 0.01$) and Pediatric Logistic Organ Dysfunction scores greater than 20 (odds ratio, 26.9; 95% CI, 8.88–81.5; $p < 0.01$), history of malignancy (odds ratio, 5.08; 95% CI, 2.43–10.68; $p < 0.01$), thrombocytopenia (platelet count, $< 50 \times 10^9/L$ or $< 50,000/mm^3$) (odds ratio, 141; 95% CI, 50.4–394.5; $p < 0.01$), use of heparin (odds ratio, 3.03; 95% CI, 1.40–6.37; $p < 0.01$), shock (odds ratio, 5.73; 95% CI, 2.85–11.5; $p < 0.01$), and multiple organ dysfunction syndrome (odds ratio,

10.41; 95% CI, 5.89–10.40; $p < 0.01$). In the multivariate analysis, platelet count less than $50 \times 10^9/L$ (odds ratio, 138; 95% CI, 42.6–449; $p < 0.01$) and age less than 12 months (odds ratio, 3.06; 95% CI, 1.03–9.10; $p = 0.02$) remained statistically significant determinants. The attending physicians were asked why they gave a platelet transfusion; the most frequent justification was prophylactic platelet transfusion in presence of thrombocytopenia with an average pretransfusion platelet count of $32 \pm 27 \times 10^9/L$ (median, 21), followed by active bleeding with an average pretransfusion platelet count of $76 \pm 39 \times 10^9/L$ (median, 72). Platelet transfusions were associated with the subsequent development of multiple organ dysfunction syndrome (odds ratio, 2.53; 95% CI, 1.18–5.43; $p = 0.03$) and mortality (odds ratio, 10.1; 95% CI, 4.48–22.7; $p < 0.01$).

Conclusions: Among children, 7.1% received at least one platelet transfusion while in PICU. Thrombocytopenia and active bleeding were significant determinants of platelet transfusion. Platelet transfusions were associated with the development of multiple organ dysfunction syndrome and increased mortality. (*Pediatr Crit Care Med* 2016; 17:e420–e429)

Key Words: intensive care; outcomes; pediatrics; platelet transfusion; thrombocytopenia

*See also p. 897.

¹Division of Pediatric Critical Care Medicine, Department of Pediatrics, Sainte-Justine Hospital, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada.

²Division of Hematology-Oncology, Department of Pediatrics, Sainte-Justine Hospital, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada.

³Research Center, Sainte-Justine Hospital, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada.

Supported, in part, by the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (grant number: 24460).

Dr. Du Pont-Thibodeau's institution received funding from Fonds de la Recherche en Santé du Québec (grant number: 24460). Dr. Tucci received support for article research from Fonds de Recherche en Santé du Québec. The remaining authors have disclosed that they do not have any potential conflicts of interest.

Copyright © 2016 by the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies

DOI: 10.1097/PCC.0000000000000879

Thrombocytopenia is common in critically ill patients; more than 10% of patients admitted to ICU have severe thrombocytopenia ($< 50,000$ platelets/ mm^3 or $50 \times 10^9/L$) at some point during their ICU stay (1, 2). Thrombocytopenia has been identified as an independent risk factor for major bleeding, including CNS hemorrhage, and has been associated with increased mortality in critically ill patients (1–5). Although platelet transfusions (PLTs) are often given to control thrombocytopenia and its related risks, studies have shown that PLTs in the critically ill often offer only modest increments in platelet count while they have been associated with adverse reactions (1, 6). PLTs have been associated with increased ventilator days and prolonged ICU stay, and has also been identified as an independent risk factor for mortality in critically ill patients (7–10). There are no clear guidelines regarding the use of PLTs in critically ill patients. Recent descriptive studies have demonstrated variable transfusion practice patterns in critically ill adults with thresholds for nonbleeding patients up to $50 \times 10^9/L$ (1, 6).

There are no hard data on practice patterns for PLTs in critically ill children. The objectives of this study were to characterize the epidemiology and determinants of PLT in PICU and shed light on the transfusion practices of pediatric intensivists. We also attempted to determine whether there is an association between PLTs and adverse outcomes.

MATERIALS AND METHODS

We undertook a prospective observational study combined with a self-administered questionnaire to document PLT practices in critically ill children. We obtained scientific and ethics approval for this study from the Institutional Review Board (ethics committee) of Sainte-Justine Hospital Research Center. Given that this study was purely observational, the board waived the need for informed consent.

Study Site

The study was conducted in the PICU of Sainte-Justine Hospital, a university affiliated multidisciplinary 24-bed PICU that admits about 1,000 patients per year. This PICU receives postterm children up to 18 years old, for medical and/or surgical purposes; a few premature neonates are admitted after cardiac surgery.

Study Population

We prospectively screened all consecutive PICU admissions from April 21, 2009, to April 20, 2010. Patients were excluded if gestational age was less than 40 weeks at the time of PICU admission, age was less than 3 days postterm or more than 18 years at PICU entry or if the patient was pregnant or admitted following labor.

We defined patients as transfused cases (TCs) if they received one or more PLT during their PICU stay and as non TCs (nTCs) if they did not receive any PLT during their PICU stay.

Intervention

We considered that a PLT was given if a patient received one or more platelet concentrates or apheresis platelet units while in PICU, whatever the volume given. There were no institutional guidelines on the administration of PLTs in our PICU while this study was being conducted. In our PICU, the standard practice is to administer one unit of platelet per 10 kg per transfusion, up to a maximum of five units. One unit refers to approximately 40 mL of apheresed platelets. All products are prestorage leukoreduced.

Data Collection and Management

Data were prospectively abstracted from medical records on a daily basis by research assistants and were collected in a validated case report form. If a patient was readmitted to PICU less than 24 hours after discharge, both PICU stays were merged and considered as one admission. If readmission to the PICU occurred more than 24 hours after discharge, then it was considered a different admission. Demographic data were collected within 24 hours after PICU admission and included age, gender, weight, and admission diagnosis. Pediatric Risk of Mortality (PRISM) and Pediatric Logistic Organ Dysfunction (PELOD) scores were also collected in order to estimate severity of illness.

Selection and Definitions of Determinants of PLTs

We generated a list of possible determinants of PLT based on medical knowledge and on a review of the literature. We also asked all intensivists working in the PICU to list which variables could prompt them to prescribe a PLT. We considered that item generation was saturated once no new possible determinants were suggested. Forty-four items were retained.

While the study was conducted, we assessed the presence or absence of all possible determinants on a daily basis. An item was registered in the case report form as a potential determinant of PLT only if it was observed prior to the first PLT administered in the PICU. We looked for the presence and absence of those same potential determinants in nTCs during their entire PICU stay. We also considered patient demographic data and all data collected at admission as possible determinants.

Head trauma was considered severe if a Glasgow Coma Score equal to or less than 8 was observed. Multiple organ dysfunction syndrome (MODS) was characterized by the presence of two or more organ system dysfunctions (respiratory, cardiovascular, neurologic, hematologic, renal, or hepatic dysfunctions) as per Goldstein et al (11). We defined hypotension as a systolic blood pressure below the fifth percentile for age (11, 12). We defined systemic inflammatory response syndrome, sepsis, severe sepsis, and septic shock as per the definitions published by an international pediatric sepsis consensus conference (11). Acute respiratory distress syndrome (ARDS) was defined according to the "American-European Consensus Conference on ARDS Criteria" (13). Coagulopathy was defined as a prothrombin time (PT) of more than 20 seconds or an activated partial thromboplastin time of more than 60 seconds. We reported the international normalized ratio not as an indicator of the risk of bleeding but to enable clinicians at other institutions to assess the severity of PT elevation for comparison to their patients.

The lowest platelet count referred to the lowest count measured within the 24 hours prior to the PLT for transfused patients, and the lowest platelet count during the entire PICU stay for patients who did not receive a PLT. We identified all bacterial and viral infections through screening of the patient's medical record and by reviewing all cultures sent during the PICU stay.

Justification for PLT

For each patient's first PLT, the attending physician was asked to fill in a questionnaire intended to describe why he prescribed the transfusion. The questionnaire was administered within 48 hours of the transfusion prescription. It consisted of a predefined list of justifications that the physician could select from. It also included a section where the physician could add other justifications for transfusion if it was not listed in the predefined list. If the physician chose more than one reason for transfusing, he was asked to rank his choices by importance.

Selection and Definition of Outcomes

The list of outcomes was generated from medical knowledge, expert opinions, and a review of the literature. An outcome

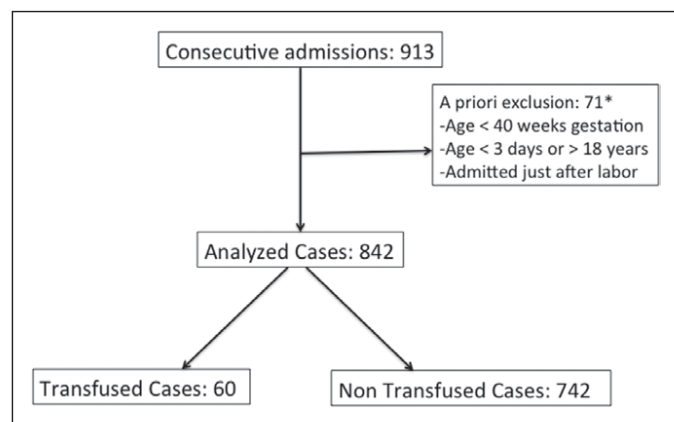


Figure 1. Patient flow chart. *There was more than one exclusion criterion in some patients.

was defined as an event that occurred after the first PLT in TCs. In nTCs, outcomes were identified if they occurred after PICU entry at any time point during PICU stay. An event that occurred prior to a PLT was not considered an outcome.

Statistical Analysis

We report descriptive statistics as a fraction of the total population, mean ± SD, and/or absolute number (n) with percentage (%) of the total population. Categorical variables were compared using chi-square statistic. The Student t test was used for continuous variables if normally distributed. The Wilcoxon signed rank test was used for continuous variables that were not normally distributed.

We performed a univariate analysis of all potential determinants of PLT by calculating an odds ratio (OR) with a 95% CI. We presented dichotomous variables with an OR and p value. We divided continuous variables into categories.

For the multivariate analysis of the determinants, we performed a multiple logistic regression. We included in the model determinants that were statistically significant in the univariate analysis or that were clinically relevant. We did not include determinants that had too much similarity with other ones (e.g., PRISM vs PELOD).

Results were considered statistically significant if the p value was lower than 0.05 (two-sided analysis). Statistical analyses were performed with SAS statistical software, version 9.3 (SAS Institute, Cary, NC).

RESULTS

The study period extended from April 2009 to April 2010. **Figure 1** illustrates the patient flow chart. During that period, 913 consecutive patients were admitted to the PICU and screened for eligibility; 71 patients were excluded. Out of the 842 patients that were retained in the study, 60 patients (7.6%) received one or more PLTs during their entire PICU stay.

Demographic Data

Table 1 presents the demographic data at PICU entry of the 842 consecutive critically ill children. The average age was 72.4 ± 72 months (median, 42 mo). The most frequent diagnoses at PICU entry were respiratory disease (35.4%), bacterial infection (28%), and viral infection (24%); 12.8% were admitted after a planned cardiac surgery.

Interventions and Cointerventions

Among the 60 patients who received at least one PLT, 80% received greater than or equal to one red-cell transfusion and 66.6% greater than or equal to one plasma transfusion. The average number of PLTs per patient was 4.78 ± 7.6 (median,

TABLE 1. Demographic and Clinical Data at PICU Entry^a

Determinants	All Patients (n = 842)	Transfused Patients (n = 60)	Nontransfused Patients (n = 782)	p
Gender (male), n (%)	434 (51.5)	31 (51.6)	403 (51.5)	0.98
Age (mo)	72.4 ± 72, 42	60.2 ± 75.2, 13.2	73.4 ± 71.7, 43.5	0.04
Severity of illness at PICU entry				
Pediatric Risk of Mortality score	5.96 ± 5.83, 5.0	10.5 ± 7.33, 9.0	5.62 ± 5.56, 4.0	< 0.01
Daily Pediatric Logistic Organ Dysfunction score	4.8 ± 6.79, 1.0	10.37 ± 9.03, 11.0	4.37 ± 6.4, 1.0	< 0.01
Laboratory data				
Lowest platelet count (n × 10 ⁹ /L)	243 ± 132, 230	95.3 ± 139, 67	254.2 ± 124.9, 242	< 0.01
Highest activated partial thromboplastin time (normal values, 22.0–36.0 s)	41.8 ± 33.5, 33.8	77.9 ± 69.0, 51.2	37.3 ± 22.2, 33	< 0.01
Highest prothrombin time (normal values, 11.6–13.8 s)	19.3 ± 12.9, 16.7	33.2 ± 32.1, 20.9	17.6 ± 6.0, 16.4	< 0.01
Highest international normalized ratio	1.6 ± 1.29, 1.33	2.5 ± 2.4, 1.71	1.49 ± 1.06, 1.31	< 0.01
Highest D-dimer level (µg/mL)	2.99 ± 12.7, 0.51	4.6 ± 15.1, 2.0	2.56 ± 12.1, 0.4	< 0.01

^aNumber and proportion (n, %) or mean ± SD, median.

International normalized ratio is provided to enable clinicians to assess the severity of prothrombin time elevation for comparison to their patients.

2.0) per PICU stay. The average lowest platelet count recorded in the 24 hours prior to any PLT was $49 \pm 34 \times 10^9/L$ (Table 2).

Determinants of PLT

Univariate Analysis. Table 3 details the univariate and multivariate analyses of the possible determinants of PLT. Patients more likely to receive a PLT had higher PRISM (PRISM, > 10; OR, 6.8; 95% CI, 2.5–18.3; $p < 0.01$) and PELOD scores (PELOD, > 20; OR, 26.9; 95% CI, 8.88–81.5; $p < 0.01$). They were more likely to have a medical history of malignancy (OR, 5.08; 95% CI, 2.43–10.7; $p < 0.01$), use of heparin (OR, 3.03; 95% CI, 1.40–6.37; $p < 0.01$), or presented with hemorrhage (OR, 5.37; 95% CI, 1.85–5.61; $p < 0.01$). Septic shock (OR, 5.0; 95% CI, 2.02–12.4; $p < 0.01$), hemorrhagic shock (OR, 13.6; 95% CI, 2.68–68.9; $p < 0.01$), and cardiogenic shock (OR, 4.99; 95% CI, 1.54–16.2; $p < 0.01$) were associated with PLT. MODS was also associated with PLT (OR, 10.4; 95% CI, 5.89–10.4; $p < 0.01$), as well as all individual organ dysfunction ($p < 0.05$ in each instance).

Multivariate Analysis. Age, PRISM score, platelet count, shock, and malignancy were integrated in the multivariate analysis. The variables PELOD score and MODS, although statistically significant, were excluded a priori from the model because of similarities with the variables platelet count and

PRISM score. The only variables that remained statistically significant after multivariate analysis were age (age, < 28 d; OR, 4.59; 95% CI, 1.23–17.2; $p = 0.02$; age, < 1 yr; OR, 3.06; 95% CI, 1.03–9.10; $p = 0.04$) and platelet count on first day in PICU: a platelet count of less than $50 \times 10^9/L$ was highly associated with PLT therapy (OR, 138.4; 95% CI, 42.6–449; $p < 0.01$).

Stated Justifications for PLTs, Pre and Post Transfusion Platelet Level Per Justification. We asked practitioners why they prescribed a PLT within 24 hours after the transfusion; the 60 respondents to the self-administered questionnaire were either fellows (55.4%) or attending physicians (44.6%). Table 4 summarizes what justifications they reported for the first PLT in PICU. The most frequently stated justifications were a low platelet count (38%), significant bleeding (20%), invasive technique (7%), and urgent surgery (5%). The same table presents the pretransfusion platelet count associated with each justification. When respondents to the questionnaire stated that they transfused platelets because they considered the platelet count was too low, the average platelet count prior to the transfusion was $32 \pm 27 \times 10^9/L$ (median, 21), whereas it was $76 \pm 39 \times 10^9/L$ (median, 72) if the reason for transfusion was significant bleeding. Our study was not sufficiently powered to detect a difference between pretransfusion platelet count and justification. ($p = 0.67$)

TABLE 2. Intervention and Cointerventions in Transfused and Nontransfused Patients^a

Intervention and Cointerventions	All Cases (n = 842)	Transfused Patients (n = 60)	Nontransfused Patients (n = 782)
PLTs received within 24 hr prior to PICU entry			
No. of transfusions per patient	1.48 ± 1.11, 1.0 (n = 56)	2.15 ± 1.53, 1.59 (n = 20)	1.11 ± 0.5, 1.0 (n = 36)
PLTs during PICU stay			
Only PLT transfusion (no other blood product)	NA	12 (20%)	NA
No. of PLTs during PICU stay per patient	NA	4.78 ± 7.6, 2.0	NA
First PLT in PICU			
Time to PLT transfusion in PICU (d)	NA	1.57 ± 2.34, 1.0	NA
Platelet level before PLT ($\times 10^9/L$)	NA	49 ± 34.3	NA
Highest activated partial thromboplastin time (normal values, 22.0–36.0 s) level before PLT (s)	NA	93.3 ± 82.4	NA
Highest prothrombin time (normal values, 11.6–13.8 s) level before PLT (s)	NA	31.9 ± 24.8	NA
Highest platelet level within 24 hr post PLT ($\times 10^9/L$)	NA	113 ± 64	NA
Cointerventions, n (%)			
At least one plasma transfusion (patients)	54 (7.4)	40 (66.6)	14 (1.8)
At least one RBC transfusion (patients)	144 (17.1)	48 (80)	96 (12.6)
Extracorporeal membrane oxygenation (no. of patients)	7 (0.8)	6 (10)	1 (0.1)

NA = not applicable; PLT = platelet transfusion.

^aNumber and proportion (n, %) or mean ± sd, median.

Interquartile range (25–75%).

TABLE 3. Possible Determinants of Platelet Transfusion: Univariate and Multivariate Analyses

Determinants	NTD ⁺ /NTD ⁻	TD ⁺ /TD ⁻	Univariate		Multivariate	
	n ⁺ /n ⁻ or Mean ± SD	n ⁺ /n ⁻ or Mean ± SD	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
At PICU entry						
Age (mo)						
< 28 d	53	9	2.77 (1.10–6.95)	0.03	4.59 (1.23–17.2)	0.02
< 12 mo	184	19	1.43 (0.66–3.11)	0.37	3.06 (1.03–9.10)	0.04
12–59 mo	198	13	1.07 (0.47–2.40)	0.88	1.62 (0.53–4.91)	0.39
60–143 mo	153	5	0.55 (0.19–1.61)	0.28	0.72 (0.19–2.71)	0.62
≥ 144 mo (reference group)	194	14	Reference			
Male	403/379	31/29	1.01 (0.59–1.70)	0.98	–	–
Admission Pediatric Risk of Mortality score						
> 10	111	25	6.80 (2.5–18.3)	< 0.01	2.91 (0.65–13.11)	0.16
6–10	205	20	2.95 (1.08–8.02)	0.03	2.06 (0.47–8.98)	0.34
1–5	315	10	0.96 (0.32–2.85)	0.94	0.88 (0.19–4.04)	0.86
0 (reference group)	151	5	Reference			
Admission Pediatric Logistic Organ Dysfunction score						
> 20	20	10	26.9 (8.88–81.5)	< 0.01	–	–
10–20	144	22	8.2 (3.2–20.7)	< 0.01	–	–
1–10	295	22	4.0 (1.6–10)	< 0.01	–	–
0 (reference group)	323	6	Reference			
Lowest platelet count on first day in ICU (× 10 ⁹ /L)						
Platelet count, < 50 × 10 ⁹ /L	12	21	141.0 (50.4–395)	< 0.01	138.4 (42.6–449)	< 0.01
Platelet count, 50–100 × 10 ⁹ /L	41	22	43.2 (17.4–108)	< 0.01	35.43 (13.5–88.5)	< 0.01
Platelet count, 100–150 × 10 ⁹ /L	103	5	3.91 (1.2–12.6)	0.02	4.21 (1.27–13.9)	0.02
Platelet count, > 150 × 10 ⁹ /L	564	7	Reference			
Anticoagulation						
Heparin ^a	43/739	9/51	3.03 (1.40–6.37)	< 0.01	–	–
Low-molecular weight heparin	26/756	2/58	1.00 (0.23–4.37)	0.99	–	–
Other anticoagulation	12/770	0/60	–	–	–	–
Admission diagnosis (the same patient may have multiple admission diagnoses)						
Respiratory disease	279/503	19/40	0.86 (0.48–1.5)	0.59	–	–
Shock	36/746	13/47	5.73 (2.85–11.5)	< 0.01	1.68 (0.59–4.74)	0.33
Hypovolemic shock	16/763	3/57	2.5 (0.71–8.87)	0.14	–	–
Septic shock	20/759	7/53	5.0 (2.02–12.4)	< 0.01	–	–
Hemorrhagic shock	3/776	3/57	13.6 (2.68–68.9)	< 0.01	–	–
Cardiogenic shock	11/768	4/56	4.99 (1.54–16.2)	< 0.01	–	–
Congenital heart disease	69/710	8/52	1.58 (0.72–3.46)	0.24	–	–
Bacterial infection	219/562	18/42	1.1 (0.62–1.95)	0.75	–	–
Viral infection	191/588	12/48	0.77 (0.40–1.47)	0.43	–	–
Polytrauma ^b	17/63	1/59	0.76 (0.1–5.8)	0.79	–	–
Severe head trauma	11/770	0/60	–	–	–	–
Severe burn	5/775	0/60	–	–	–	–
Postoperative planned cardiac surgery	98/682	7/53	0.92 (0.40–2.08)	0.84	–	–
Postoperative of unplanned surgery	59/722	4/56	0.87 (0.31–2.49)	0.80	–	–
Past or current malignancy	33/748	11/49	5.08 (2.43–10.7)	< 0.01	2.15 (0.67–6.91)	0.20
Other ^c	332/449	36/24	2.03 (1.19–3.5)	< 0.01	–	–

(Continued)

TABLE 3. (Continued). Possible Determinants of Platelet Transfusion: Univariate and Multivariate Analyses

Determinants	NTD ⁺ /NTD ⁻	TD ⁺ /TD ⁻	Univariate		Multivariate	
	<i>n</i> ⁺ / <i>n</i> ⁻ or Mean ± SD	<i>n</i> ⁺ / <i>n</i> ⁻ or Mean ± SD	OR (95% CI)	<i>p</i>	OR (95% CI)	<i>p</i>
Before first platelet transfusion in transfused patients, during PICU stay in nontransfused patients						
Multiple Organ Dysfunction Syndrome ^d	126/656	40/20	10.4 (5.89–10.4)	< 0.01	–	–
Respiratory issues						
Respiratory dysfunction ^d	277/505	31/29	1.95 (1.15–3.30)	0.01	–	–
Acute respiratory distress syndrome	31/751	6/53	2.74 (1.10–6.86)	0.03	–	–
Cardiovascular issues						
Cardiovascular dysfunction ^d	96/686	23/37	4.44 (2.53–7.80)	< 0.01	–	–
Cardiac arrest	5/777	4/56	11.1 (2.90–42.5)	< 0.01	–	–
Hypotension (< 2 SD for age)	221/561	25/35	1.81 (1.06–3.10)	0.02	–	–
Hematologic issues						
Hematologic dysfunction ^d	68/713	47/13	37.9 (19.5–73.5)	< 0.01	–	–
Active hemorrhage	13/768	5/55	5.37 (1.85–15.61)	< 0.01	–	–
Disseminated intravascular coagulation	60/113	20/10	3.76 (1.66–8.56)	< 0.01	–	–
Platelet count, < 50 × 10 ⁹ /L	22/717	31/29	34.8 (18.0–67.4)	< 0.01	–	–
Platelet count, < 20 × 10 ⁹ /L	4/735	9/51	32.4 (9.66–108)	< 0.01	–	–
International normalized ratio, > 2	32/388	23/30	9.30 (4.84–17.8)	< 0.01	–	–
Other issues						
Neurologic dysfunction ^d	382/400	40/20	2.09 (1.20–3.65)	< 0.01	–	–
Glasgow coma score, ≤ 8	52/730	8/52	2.16 (0.97–4.79)	0.05	–	–
Hepatic dysfunction	81/701	19/41	4.01 (2.22–7.24)	< 0.01	–	–
Renal failure	15/767	5/55	4.64 (1.63–13.3)	< 0.01	–	–
Systemic inflammatory response syndrome	426/354	35/25	1.16 (0.68–1.98)	0.58	–	–
Sepsis	242/537	18/42	0.95 (0.54–1.69)	0.86	–	–
Severe sepsis	48/733	9/51	2.69 (1.25–5.80)	< 0.01	–	–
Septic shock	19/762	6/54	4.45 (1.71–11.6)	< 0.01	–	–
Bacterial infection	246/534	17/43	0.86 (0.48–1.54)	0.60	–	–
Viral infection	206/573	12/48	0.69 (0.36–1.34)	0.27	–	–
Chemotherapy ^e	12/770	7/53	8.47 (3.20–22.4)	< 0.01	–	–

NTD⁺ = nontransfused patients with possible determinant while in PICU, NTD⁻ = nontransfused patients without possible determinant while in PICU, OR = odds ratio, TD⁺ = transfused patients with possible determinant prior to transfusion, TD⁻ = transfused patients without possible determinant prior to transfusion.

^aHeparin > 1 unit/kg/hr for at least 1 hr.

^bWithout head trauma.

^cOther; seizures, diabetic ketoacidosis, intoxication, apparent life threatening event, and arrhythmia.

^dRefer to the multiple organ dysfunction syndrome criteria described in 2005 (11).

^ePatients receiving chemotherapy in the last month prior to their PICU admission.

Interquartile range (25–75%); *n* is the total number of patients in the cohort (916).

Dashes indicate no multivariate analysis or no measured odds ratio for these determinants.

Patients Receiving Heparin

Eleven of all transfused patients received either heparin or low molecular weight heparin. Active bleeding was a more frequent

determinant for PLT in this population (*p* = 0.01). Furthermore, the average pretransfusion platelet count of patients receiving heparin (standard heparin or low molecular weight

TABLE 4. Justification for First Platelet Transfusion Stated by Ordering Physician (n = 60) and Associated Pre- and Posttransfusion Platelet Count^a

Justification	Physicians	Pretransfusion Platelet Count ($\times 10^9/L$) ^b	Posttransfusion Platelet Count ($\times 10^9/L$) ^c
	n (%)	Mean \pm sd, Median ^d	Mean \pm sd, Median ^e
Low platelet count	23 (38)	32 \pm 27, 21	89 \pm 49, 75
Significant bleeding	12 (20)	76 \pm 39, 72	182 \pm 70, 183
Other justification	8 (13)	38 \pm 29, 33	92 \pm 48, 92
Invasive technique	4 (7)	85 \pm 32, 77	147 \pm 54, 136
Prior to urgent surgery	3 (5)	57 \pm 26, 60	92 \pm 24, 92
Extracorporeal membrane oxygenator	3 (5)	68 \pm 15, 62	136 \pm 31, 126
Underlying disease	1 (2)	71	148
Plasmapheresis	1 (2)	30	44
Disseminated intravascular coagulation with D-dimers > 0.5 μ g/mL	1 (2)	49	114

Other justification (n): postoperative of cardiac surgery (1), postoperative liver transplant (1), cardiac arrest due to hemorrhagic shock (1), sternal closure (1), leukopheresis (1), liver puncture (1), and unanswered (2).

^aFirst-ranked justification for platelet transfusion as per ordering physician.

^bLast platelet count before first platelet transfusion in PICU.

^cFirst platelet count after first platelet transfusion in PICU (platelet count was done within 24 hr post first transfusion in all patients).

^d $p = 0.006$, pretransfusion platelet levels vary significantly depending on the justification.

^e $p = 0.010$, posttransfusion platelet levels vary significantly depending on the justification.

heparin) was $58 \pm 26 \times 10^9/L$, whereas it was $47.5 \pm 36 \times 10^9/L$ in those that did not receiving heparin. This was not statistically significantly different ($p = 0.4$).

Outcomes

Table 5 details the outcomes observed in participants. Outcomes were identified if they occurred after the first PLT in transfused patients or at some time during the PICU stay in nontransfused patients. New MODS was significantly associated with PLT (OR, 2.53; 95% CI, 1.18–5.43; $p = 0.03$) as was a high PELOD score (PELOD, > 20; OR, 73.5; 95% CI, 16.2–333; $p < 0.01$). All new organ dysfunctions (respiratory, cardiovascular, hematologic, neurologic, and renal) were positively associated with PLT, as well as sepsis (OR, 5.33; 95% CI, 2.77–10.3; $p < 0.01$), nosocomial infections (OR, 6.48; 95% CI, 3.19–13.2; $p < 0.01$), length of PICU stay (5.4 ± 12.5 vs 15.5 ± 29.2 d; $p < 0.01$), and PICU mortality (OR, 10.1; 95% CI, 4.48–22.7; $p < 0.01$).

DISCUSSION

This prospective observational study reports that 7.6% of children admitted to the PICU of a multidisciplinary university-affiliated hospital received at least one PLT during their PICU stay. Univariate analyses revealed that age, severity of illness, MODS, severe sepsis, and three types of shock (cardiogenic, hemorrhagic, and septic) were risk markers of PLT. In the multivariate analysis, the statistical variability was almost completely attributable to risks associated with young age and thrombocytopenia. The average platelet count prior

to prophylactically transfused patients was $32 \pm 27 \times 10^9/L$, whereas it was $76 \pm 39 \times 10^9/L$ in patients transfused for significant bleeding. PLTs were associated with many adverse outcomes, including increased frequency and severity of organ dysfunctions, sepsis, nosocomial infections, prolonged PICU stay, and increased risk of mortality.

Thrombocytopenia has been clearly identified in the literature as a marker of severity of illness and has been associated with worse outcome and mortality (2, 14–17). The etiology of thrombocytopenia in ICU is multifactorial and can appear in context of sepsis, systemic inflammation, and coagulation disorders. It can be secondary to increased platelet consumption or sequestration, reduced platelet production or hemodilution (18). In our study, sicker patients, most at risk for thrombocytopenia, received the majority of PLTs.

PLTs are administered in the ICU to correct low platelet counts and to prevent or treat bleeding. The thresholds at which ICU physicians should transfuse are however unclear. In this study, PICU physicians prophylactically transfuse platelets at an average threshold of $32 \pm 27 \times 10^9/L$. A platelet count of $76 \pm 39 \times 10^9/L$ in presence of bleeding and of $85 \pm 32 \times 10^9/L$ prior to an invasive procedure also prompt them to prescribe PLT. In comparison, studies in adult ICUs have shown that intensivists target a threshold of 40 – $50 \times 10^9/L$ for prophylactic PLTs and $50 \times 10^9/L$ for therapeutic transfusion (1, 6). Stronger evidence that defines thresholds for PLTs can be found in the field of hematology-oncology. Randomized controlled trials in patients with acute leukemia and in patients with bone marrow transplant reported no difference in mortality and morbidity when transfusing platelets at a threshold of $10 \times 10^9/L$ versus

TABLE 5. Outcomes Associated With Platelet Transfusion: Univariate Analysis^a

Outcomes	NTO ⁺ /NTO ⁻	TO ⁺ /TO ⁻	Univariate OR	
	<i>n</i> ⁺ / <i>n</i> ⁻ or Mean ± sd	<i>n</i> ⁺ / <i>n</i> ⁻ or Mean ± sd	OR (95% CI)	<i>p</i>
MODS				
New MODS ^b	51/731	9/51	2.53 (1.18–5.43)	0.03
Progressive MODS ^c	45/620	20/36	7.65 (4.1–14.3)	< 0.01
Worst daily Pediatric Logistic Organ Dysfunction	6.1 ± 7.2 (2)	13.7 ± 10.9 (12)	NA	< 0.01
Respiratory system				
Respiratory dysfunction ^d	277/505	37/23	2.93 (1.71–5.03)	< 0.01
Acute respiratory distress syndrome	31/751	7/53	3.19 (1.35–7.61)	0.01
Total length of mechanical ventilation (d)	2.3 ± 10.4	11.6 ± 28.8	NA	< 0.01
Cardiovascular system				
Cardiovascular dysfunction ^d	97/685	24/36	4.71 (2.69–8.23)	< 0.01
Cardiac arrest	5/777	5/50	15.5 (4.35–55.5)	< 0.01
Hypotension	219/563	29/27	2.76 (1.59–4.77)	< 0.01
Circulatory overload	48/734	14/41	5.22 (2.66–10.3)	< 0.01
Pulmonary hypertension	10/772	3/57	4.06 (1.08–15.2)	0.02
Hematologic system				
Hematological dysfunction ^d	67/714	42/14	31.9 (16.6–61.5)	< 0.01
Deep venous thrombosis	11/770	2/54	2.59 (0.56–11.9)	0.21
Disseminated intravascular coagulation	61/721	24/36	7.88 (4.42–14.1)	< 0.01
Transfusion reaction	2/780	1/59	6.6 (0.59–73.9)	0.20
Other issues				
Neurologic dysfunction ^d	379/402	40/16	2.65 (1.46–4.81)	< 0.01
Hepatic dysfunction ^d	81/701	24/36	5.77 (3.23–10.15)	< 0.01
Renal dysfunction ^d	14/768	11/49	12.3 (5.31–28.5)	< 0.01
Extra-renal epuration	7/775	8/52	17.0 (5.94–48.8)	< 0.01
Systemic inflammatory response syndrome	425/357	42/18	1.96 (1.11–3.46)	0.02
Sepsis	241/541	29/31	2.1 (1.24–3.6)	< 0.01
Severe sepsis	46/736	15/45	5.33 (2.77–10.3)	< 0.01
Septic shock	19/763	8/52	6.18 (2.58–14.8)	< 0.01
Nosocomial infection	32/750	13/47	6.48 (3.19–13.2)	< 0.01
Mortality				
PICU mortality	17/765	11/49	10.1 (4.48–22.7)	< 0.01
Hospital mortality	13/736	1/58	0.98 (0.13–7.59)	1.00
Total length of stay (from PICU entry to discharge)				
Length of PICU stay (d)	5.4 ± 12.5 (3.0)	15.5 ± 29.2 (8.0)	NA	< 0.01
Length of hospital stay (d)	14.8 ± 29.5 (6.0)	34.1 ± 32.7 (25)	NA	< 0.01

MODS = multiple organ dysfunction syndrome, NA = not applicable, NTO⁺ = nontransfused patients with outcome while in PICU, NTO⁻ = nontransfused patients without outcome while in PICU, OR = odds ratio, TO⁺ = transfused patients with outcome; TO⁻ = transfused patients without outcome.

^aAll outcomes were screened after first transfusion or during the overall PICU stay in nontransfused patients.

^bNew multiple organ dysfunction syndrome (MODS): MODS acquired after the first RBC transfusion in transfused patients or after PICU entry in nontransfused patients.

^cRefer to the MODS criteria described in 2005 (11).

^dProgressive MODS: MODS that worsened after the first RBC transfusion in transfused patients or after PICU entry in nontransfused patients.

Interquartile range (25–75%); *n* is the total number of patients in the cohort (916).

$20 \times 10^9/L$ (19–21). Two studies compared a therapeutic versus a prophylactic transfusion strategy (22, 23). These two trials randomized patients with leukemia or bone marrow transplant to receive platelets only if they were clinically bleeding or on a prophylaxis basis if their count dropped below a threshold of $10 \times 10^9/L$. Both studies demonstrated an increased risk of significant bleeding particularly in the CNS (23) in patients randomized to the therapeutic approach. Recent guidelines developed by the American Association of Blood Banks recommend transfusing 1) hospitalized adults with therapy-induced hypoproliferative thrombocytopenia at a threshold of $10 \times 10^9/L$; 2) patients with elective central venous catheter placement at a threshold of $20 \times 10^9/L$; 3) patients with lumbar puncture at a threshold of $50 \times 10^9/L$; and 4) patients having major elective nonneuroaxial surgery at a threshold of $50 \times 10^9/L$ (24, 25).

Although guidelines in hematology-oncology patients are well supported by evidence, these guidelines may not be applicable to the critically ill population. In the former group, most cases of thrombocytopenia are attributable to bone marrow failure or invasion. In PICU patients, increased platelet consumption is common and is caused by diverse underlying disorders including infections and disseminated intravascular coagulation. Furthermore, platelet dysfunction is frequently observed in PICU patients, especially after cardiac surgery (26). PLTs may be far less useful in PICU patients because critically ill children consume transfused platelets almost immediately, which can lead to thrombosis and transfusion-associated multiple organ failure (27). Some experts have developed recommendations for PLTs in the critically ill population, but their opinions are not supported by any data specific to this population. A group of experts of the “Société de Réanimation de Langue Française” published recommendations in 2012 on the management of thrombocytopenia in ICU patients. They recommended prophylactic PLT for central thrombocytopenia if the platelet count is less than $20 \times 10^9/L$. In patients with severe hemorrhage, they recommended transfusion if the platelet count is less than $50 \times 10^9/L$. They suggested a platelet threshold of $50 \times 10^9/L$ in ICU patients with severe sepsis, with a risk of severe hemorrhage or use of anticoagulant, invasive procedure, pre or post-surgical setting. Finally, they recommend a platelet threshold of $100 \times 10^9/L$ after surgery involving the CNS, liver, eye, and large blood vessels, as well as in polytrauma (6, 28). No specific recommendation exists for children. Physicians in our study targeted a platelet count higher than that applied in hematology-oncology. They targeted thresholds similar to those advocated for adults by ICU experts. Platelet physiology in the critically ill is very complex and poorly understood. Heterogeneity within the critically ill population and multiple confounding risk factors render the development of PLT guidelines particularly challenging.

It is unclear whether PLTs really protect PICU patients against the complications of thrombocytopenia and whether they actually lead to increased platelet count (1, 6). Stanworth et al (1) reported an overall modest increase of only $18.5 \times 10^9/L$ in critically ill adults after transfusing a mean of 1.7 platelet

units regardless of the presence of bleeding or the pretransfusion threshold. Furthermore, the usefulness of many PLTs given to ICU patients can be questioned: for example, a study by Andrew et al (29) in premature neonates demonstrated that transfusing neonates prophylactically at a platelet threshold of $150 \times 10^9/L$ versus $50 \times 10^9/L$ did not reduce the incidence of intracranial hemorrhage or the need for red cell transfusion. The clinical usefulness of PLT in PICU patients is not clearly determined.

PLTs are not without risks. They have been associated with transfusion-associated reactions such as allergic reactions, acute hypotensive transfusion reactions, acute hemolytic transfusion reactions, febrile nonhemolytic reactions, transfusion-related acute lung injury, and transfusion-associated circulatory overload (30, 31). A growing body of evidence suggests that platelet activation and aggregation are significantly altered in sepsis, acute lung injury, and ARDS and can lead to increased microvascular injury and thrombosis as well as participate in pathologic immune responses (32). PLTs have been identified as an isolated risk factor for deep vein thrombosis in critically ill adults (33). In our study, PLTs were associated with organ dysfunction, sepsis, nosocomial infections, prolonged ICU stay, and mortality. PLTs are not without risks, and the decision to transfuse platelets in PICU patients should always weigh the pros and cons.

There are some limitations to this study. First, only 60 patients received a PLT, which limits the power of our study. It is a single center study, which limits generalizability. Finally, although our study demonstrates an association between PLTs and worse outcomes, we cannot conclude there is a cause-effect relationship, given the design of our study and the many potential confounders.

SUMMARY FINDINGS

This study sheds some light on the current practice patterns of pediatric intensivists with respect to PLT. Intensivists administer PLT in the setting of thrombocytopenia. They use a prophylactic threshold of $32 \pm 27 \times 10^9/L$ for nonbleeding patients and of $76 \pm 39 \times 10^9/L$ for bleeding patients. We also report an association between PLT and many adverse outcomes.

CONCLUSIONS

The decision to transfuse platelets should judiciously weigh the desire to prevent bleeding with the potential risks and complications associated. Current practice patterns of pediatric intensivists with regard to prophylactic PLT are not supported by any data. There is an urgent need for more study in this area. Randomized controlled trials are required to help us determine appropriate platelet thresholds for transfusion in critically ill children. More data are required before evidence-based PLT guidelines can be elaborated for critically ill children.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Mariana Dumitrascu, the research coordinator for this study.

REFERENCES

1. Stanworth SJ, Walsh TS, Prescott RJ, et al; Intensive Care Study of Coagulopathy Investigators: Thrombocytopenia and platelet transfusion in UK critical care: A multicenter observational study. *Transfusion* 2013; 53:1050–1058
2. Williamson DR, Albert M, Heels-Ansdell D, et al; PROTECT collaborators; Canadian Critical Care Trials Group; Australian and New Zealand Intensive Care Society Clinical Trials Group: Thrombocytopenia in critically ill patients receiving thromboprophylaxis: Frequency, risk factors, and outcomes. *Chest* 2013; 144:1207–1215
3. Moreau D, Timsit JF, Vesin A, et al: Platelet count decline: An early prognostic marker in critically ill patients with prolonged ICU stays. *Chest* 2007; 131:1735–1741
4. Stansbury LG, Hess AS, Thompson K, et al: The clinical significance of platelet counts in the first 24 hours after severe injury. *Transfusion* 2013; 53:783–789
5. Akca S, Haji-Michael P, de Mendonça A, et al: Time course of platelet counts in critically ill patients. *Crit Care Med* 2002; 30:753–756
6. Arnold DM, Crowther MA, Cook RJ, et al: Utilization of platelet transfusions in the intensive care unit: Indications, transfusion triggers, and platelet count responses. *Transfusion* 2006; 46:1286–1291
7. Fayed NA, Abdallah AR, Khaili MK, et al: Therapeutic rather than prophylactic platelet transfusion policy for severe thrombocytopenia during liver transplantation. *Platelets* 2014; 25:576–586
8. Vande Vusse LK, Madtes DK, Guthrie KA, et al: The association between red blood cell and platelet transfusion and subsequently developing idiopathic pneumonia syndrome after hematopoietic stem cell transplantation. *Transfusion* 2014; 54:1071–1080
9. Bilgin YM, van de Watering LM, Versteegh MI, et al: Postoperative complications associated with transfusion of platelets and plasma in cardiac surgery. *Transfusion* 2011; 51:2603–2610
10. Muylle L, Wouters E, De Bock R, et al: Reactions to platelet transfusion: The effect of the storage time of the concentrate. *Transfus Med* 1992; 2:289–293
11. Goldstein B, Giroir B, Randolph A; International Consensus Conference on Pediatric Sepsis: International pediatric sepsis consensus conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6:2–8
12. Goldstein B, Giroir B, Randolph A: Values for systolic blood pressure. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6:500–501
13. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, et al: The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149:818–824
14. Hui P, Cook DJ, Lim W, et al: The frequency and clinical significance of thrombocytopenia complicating critical illness: A systematic review. *Chest* 2011; 139:271–278
15. Vanderschueren S, De Weerd A, Malbrain M, et al: Thrombocytopenia and prognosis in intensive care. *Crit Care Med* 2000; 28:1871–1876
16. Crowther MA, Cook DJ, Meade MO, et al: Thrombocytopenia in medical-surgical critically ill patients: Prevalence, incidence, and risk factors. *J Crit Care* 2005; 20:348–353
17. Shalansky SJ, Verma AK, Levine M, et al: Risk markers for thrombocytopenia in critically ill patients: A prospective analysis. *Pharmacotherapy* 2002; 22:803–813
18. Wang HL, Aguilera C, Knopf KB, et al: Thrombocytopenia in the intensive care unit. *J Intensive Care Med* 2013; 28:268–280
19. Rebulli P, Finazzi G, Marangoni F, et al: The threshold for prophylactic platelet transfusions in adults with acute myeloid leukemia. Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto. *N Engl J Med* 1997; 337:1870–1875
20. Heckman KD, Weiner GJ, Davis CS, et al: Randomized study of prophylactic platelet transfusion threshold during induction therapy for adult acute leukemia: 10,000/microL versus 20,000/microL. *J Clin Oncol* 1997; 15:1143–1149
21. Zumberg MS, del Rosario ML, Nejame CF, et al: A prospective randomized trial of prophylactic platelet transfusion and bleeding incidence in hematopoietic stem cell transplant recipients: 10,000/L versus 20,000/microL trigger. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002; 8:569–576
22. Wandt H, Schaefer-Eckart K, Wendelin K, et al; Study Alliance Leukemia: Therapeutic platelet transfusion versus routine prophylactic transfusion in patients with haematological malignancies: An open-label, multicentre, randomised study. *Lancet* 2012; 380:1309–1316
23. Stanworth SJ, Estcourt LJ, Powter G, et al; TOPPS Investigators: A no-prophylaxis platelet-transfusion strategy for hematologic cancers. *N Engl J Med* 2013; 368:1771–1780
24. Kaufman RM, Djulbegovic B, Gernsheimer T, et al; AABB: Platelet transfusion: A clinical practice guideline from the AABB. *Ann Intern Med* 2015; 162:205–213
25. Kumar A, Mhaskar R, Grossman BJ, et al; AABB Platelet Transfusion Guidelines Panel: Platelet transfusion: A systematic review of the clinical evidence. *Transfusion* 2015; 55:1116–1127; quiz 1115
26. Kirklin J, Barratt-Boyes B: Hypothermia, circulatory arrest, and cardiopulmonary bypass. In: *Cardiac Surgery*. 1st Edition. Kirklin JW, Barratt-Boyes B (Eds). New York, John Wiley and Sons, 1993, pp 61–127
27. Nguyen T, Hall M, Han Y, et al: Microvascular thrombosis in pediatric multiple organ failure: Is it a therapeutic target? *Pediatr Crit Care Med* 2001; 2:187–196
28. Van der Linden T, Souweine B, Dupic L, et al: Management of thrombocytopenia in the ICU (pregnancy excluded). *Ann Intensive Care* 2012; 2:42
29. Andrew M, Vegh P, Caco C, et al: A randomized, controlled trial of platelet transfusions in thrombocytopenic premature infants. *J Pediatr* 1993; 123:285–291
30. Gauvin F, Lacroix J, Robillard P, et al: Acute transfusion reactions in the pediatric intensive care unit. *Transfusion* 2006; 46:1899–1908
31. Oakley FD, Woods M, Arnold S, et al: Transfusion reactions in pediatric compared with adult patients: A look at rate, reaction type, and associated products. *Transfusion* 2015; 55:563–570
32. Katz JN, Kolappa KP, Becker RC: Beyond thrombosis: The versatile platelet in critical illness. *Chest* 2011; 139:658–668
33. Cook D, Crowther M, Meade M, et al: Deep venous thrombosis in medical-surgical critically ill patients: Prevalence, incidence, and risk factors. *Crit Care Med* 2005; 33:1565–1571

Chapitre 3: Critique des articles

Dans ce chapitre, nous critiquerons les deux articles présentés. Nous discuterons brièvement des difficultés rencontrées lors du développement du premier article sur les réactions hypotensives associées aux bradykinines. Nous discuterons ensuite plus en détail du deuxième article sur l'épidémiologie des transfusions de plaquettes aux soins intensifs, sur les méthodes employées et sur la validité interne et externe de cette recherche.

Critique de l'article: *Incidence of hypotension and acute isolated hypotensive transfusion reactions following platelet concentrate transfusions.*

1.1 Rappel de la problématique et des objectifs

Les réactions hypotensives aiguës isolées (*acute isolated hypotensive transfusion reactions*) sont associées aux transfusions de plaquettes. Leur incidence a beaucoup diminué depuis la filtration des plaquettes avant leur entreposage. Cependant ces réactions continuent de se produire. Leur incidence, leur étiologie et leur impact clinique sont mal décrits dans la littérature.

Le premier objectif de cet article était d'évaluer l'incidence des réactions hypotensives associées aux transfusions de plaquettes et plus particulièrement des réactions hypotensives aiguës isolées (*acute isolated hypotensive transfusion reactions*). Notre deuxième objectif était de déterminer si ces réactions étaient associées à une augmentation de la relâche de bradykinines. Pour répondre à nos objectifs, nous avons mesuré le taux de bradykinines dans les sacs collecteurs de plaquettes directement après la transfusion de plaquettes. Nous avons mesuré ce taux dans tous les sacs collecteurs ayant causé une hypotension ou une réaction hypotensive aigue isolée ainsi que dans 143 contrôles n'ayant pas causé de réaction ou ayant causé une réaction n'impliquant pas d'hypotension. Nous espérions obtenir au moins 4 contrôles pour 1 cas. Malheureusement, nous avons obtenu très peu de cas positifs et avons du terminer l'étude pour une manque de ressources financières. Tout au long de notre étude, Il a fallu surmonter plusieurs barrières s'étant révélées de la conception et de l'exécution de cette étude pour atteindre nos objectifs.

1.2. Problème 1: L'identification des réactions transfusionnelles impliquant

l'hypotension

Une des difficultés encourues dans le cadre de cette étude était l'identification des épisodes d'hypotension et ce, pour deux raisons principales. D'une part, les définitions de réactions transfusionnelles varient beaucoup dans la littérature. Nous avons utilisé les définitions de réactions transfusionnelles du programme d'hémovigilance du Québec. Cependant, la majorité des auteurs utilisent des définitions propres à leur système d'hémovigilance régional ou national qui peuvent varier(55,73–75). Cela a certainement pu contribuer à une divergence dans les valeurs d'incidence mesurées et à certaines erreurs de classifications. Des futures définitions plus standardisées pourraient résoudre une partie du problème. D'autre part, lorsqu'une transfusion de plaquettes est administrée à un patient, plusieurs événements cliniques peuvent s'entremêler particulièrement lorsque le patient est critiqueusement malade, ce qui est le cas de tous les patients qui se trouvent aux soins intensifs. Par exemple, lorsque l'on administre une transfusion à un patient en choc septique, il est possible que l'hypotension qui se développe après la transfusion de plaquettes soit en lien avec sa maladie de base — le choc septique — et non secondaire à la transfusion de plaquettes. Par ailleurs, il est aussi possible que l'hypotension se développant suite à une transfusion de plaquettes soit secondaire à une réaction anaphylactique ou à une contamination bactérienne. Départager la cause de ces différents types de réaction hypotensive est souvent difficile et nécessite souvent du jugement et une expertise clinique. Plusieurs études ayant tenté de mesurer l'incidence de ces événements ont utilisé les systèmes de surveillance des banques de sang. En France et au Québec, on exige qu'après chaque suspicion de réaction transfusionnelle, un formulaire soit rempli, formulaire dénommé« rapport d'incident et accident après une transfusion » (RIAT).

Sur ce formulaire, l'infirmière au chevet inscrit la date et l'heure de la transfusion, les signes et symptômes associés et les signes vitaux du patient. Ces formulaires sont par la suite renvoyés à la banque de sang avec le reste de la transfusion non administrée. Bien que ces formulaires permettent d'identifier la majorité des réactions transfusionnelles, ils ne sont pas très spécifiques. En effet, ces formulaires ne permettent pas toujours de bien comprendre le contexte clinique. Cela risque de faussement amplifier le nombre de rapports considérés positifs. Cette approche est utile dans le contexte d'un programme de surveillance provincial ou national où l'objectif premier est de ne pas manquer d'évènement (autrement dit, on cherche une plus grande sensibilité). Par contre, dans le contexte d'une étude comme la nôtre où nous essayons de déterminer la véritable incidence des réactions hypotensives, leur impact clinique et leur relation biologique avec la cascade de la kinine-kallikréine, cette méthode n'est pas satisfaisante parce qu'on cherche à être plutôt spécifique. De ce fait, dans le cadre de notre étude, nous avons demandé à un comité d'adjudicateurs de vérifier et de valider le diagnostic d'épisode hypotensif. Une assistante de recherche était en charge d'identifier tous les RIAT avec mention d'hypotension. Les dossiers associés à ces RIATs étaient finement étudiés par 3 adjudicateurs : 2 intensivistes et un hématologue qui devaient déterminer individuellement la nature de ces réactions et l'imputabilité de la transfusion de plaquettes. Si les trois adjudicateurs individuellement arrivaient à un consensus, le cas était retenu. Pour les évènements avec discordance de diagnostic, les adjudicateurs se sont rencontrés par la suite pour en rediscuter. Un cas qui ne faisait pas l'unanimité même après la rencontre des adjudicateurs n'était pas retenu comme un cas positif.

1.3. Problème 2: la mesure du taux de bradykinines

Les bradykinines ont une demi-vie de quelques minutes. Leur mesure est donc difficile à obtenir et nécessite un prélèvement rapide. Dans le cadre de notre étude, nous suggérons trois hypothèses aux réactions hypotensives aiguës isolées : 1) l'entreposage tel quel des plaquettes peut induire la cascade de kinine-kallikréine; 2) le métabolisme des bradykinines du patient receveur ou 3) du donneur est anormal ou ralenti. Pour notre étude, prélever le sang du donneur était impossible. Nous avons aussi jugé trop difficile de déterminer si la relâche de bradykinines était secondaire au métabolisme anormal du patient receveur. En effet, pour pouvoir établir cette association, il aurait fallu prélever le patient dans les quelques minutes suivant la réaction transfusionnelle. Nous avons jugé cette situation trop complexe et non réaliste. Nous avons donc décidé d'évaluer notre première hypothèse soit la présence de bradykinines dans le plasma des plaquettes entreposées. Nous avons recueilli à la suite de chaque réaction transfusionnelle toutes les tubulures et sacs associés à la transfusion de plaquettes et mesuré la concentration de bradykinines selon une technique validée par Héma-Québec. Notre étude a permis d'analyser de façon isolée l'entreposage de plaquettes comme facteur de risque. Nous n'avons par contre pas élucidé si le métabolisme de la bradykinine du patient receveur ou de donneur pouvait être responsable de ces réactions.

1.4. Problème 3: Nos résultats

Il aurait été intéressant d'apparier nos cas avec des contrôles ayant des caractéristiques similaires tel que le score de sévérité de maladie, âge, maladie etc. Cela nous aurait ainsi permis d'éliminer l'impact de la maladie sous-jacente du patient sur l'incidence relative de ces événements. Cependant, nous avons obtenu une si faible incidence de cas positifs qu'un appariement de cas et contrôles aurait réduit considérablement l'échantillon. Nous avons

mesuré le taux de bradykinines dans 143 contrôles. L'objectif initial était d'obtenir environ 4 contrôles pour 1 cas afin d'optimiser la puissance de notre étude sur cet aspect pathophysiologique. Cependant, nous fûmes limités par l'incidence de cas positifs.

En effet, lors de l'exécution de notre étude, nous avons identifié très peu d'évènements positifs. En effet, malgré l'inclusion de 842 patients sur une période de 28 mois, nous avons identifié une seule *réaction hypotensive aigue isolée*. Ce résultat était inattendu. En effet, la littérature rapportait une incidence de *réaction hypotensive aigue isolée* beaucoup plus élevée. Une des solutions pour augmenter le nombre d'évènements aurait été de prolonger la durée de notre étude. Cela n'aurait pas nécessairement permis d'obtenir davantage de résultats. Cependant, cela aurait engendré des coûts plus importants.

Notre étude a plutôt révélé que la problématique clinique des réactions hypotensives associées aux transfusions de plaquettes est peut être moins fréquente que suggérée dans la littérature. Il se pourrait que le taux faible de réactions post transfusions de plaquettes que nous avons détecté soit attribuable au fait qu'au Canada les concentrés de plaquettes sont dérivés de produits sanguins leucoréduits avant l'entreposage, ce qui n'était pas le cas dans plusieurs études portant sur la question.

Finalement, dans cet article, nous avons tout de même mis en évidence l'utilité d'un comité d'adjudicateurs pour confirmer le diagnostic et pour évaluer l'imputabilité de la transfusion de plaquettes vis à vis une réaction hypotensive.

Les taux de bradykinines mesurés dans notre étude furent extrêmement variables. Nous avons mesuré des taux de 55.7 ± 178 pg/mL (95%CI: 0.0-133.7 pg/mL) pour les 20 évènements hypotensifs, 10 pg/mL pour la réaction hypotensive aigue isolée et 226.4 ± 1252 pg/mL (95%CI: 20.0-432.4 pg/ml) pour les 143 contrôles. (fig.1 annexe). On constate que les

intervalles de confiance mesurés à 95% sont extrêmement larges, suggérant une importante variabilité dans nos mesures et donc peu de précision. Une étude par Moreau et al qui a aussi mesuré le taux de bradykinines dans les sacs collecteurs de plaquettes a obtenu une variabilité similaire.(57) Cette étude suggérait qu'il existe une différence dans la capacité du plasma du donneur d'activité la cascade de la kinine-kallikréine. Ceci n'a pas été investigué dans notre étude. D'autre part, les réactions hypotensives aiguës isolées pourraient aussi être associées à des problèmes au niveau du donneur, du receveur ou des caractéristiques de la transfusion. Notre étude a investigué le rôle de la transfusion telle quelle, à savoir si l'entreposage des sacs pouvait engendrer une relâche de bradykinines. Nous n'avons pas investigué si les caractéristiques du receveur ou du donneur pourraient être à l'origine de ces réactions.

Critique de l'article: *Platelet Transfusions in Pediatric Intensive Care*

2.1. Rappel de la problématique et des objectifs de l'étude

Des plaquettes sont transfusées aux patients en soins intensifs pour éviter une hémorragie, mais aucune donnée solide n'appuie les pratiques transfusionnelles actuelles des intensivistes. La littérature récente suggère une association entre transfusions de plaquettes et morbidité / mortalité. Il est devenu urgent de mieux définir les indications cliniques des transfusions de plaquettes aux soins intensifs pédiatriques et que l'on essaie de mesurer leur réel risque. Notre étude pose un premier regard sur cette problématique.

L'objectif principal était de déterminer l'épidémiologie des transfusions de plaquettes aux soins intensifs pédiatriques — leur incidence et leurs déterminants — ainsi que de comprendre les pratiques transfusionnelles des intensivistes pédiatriques. Le deuxième objectif était d'évaluer s'il existe une association entre ces transfusions et une augmentation de la morbidité et de la mortalité chez les enfants critiqueusement malades, tel que suggéré dans la littérature.

Nous avons démontré que 7% des enfants admis aux soins intensifs pédiatriques du CHU Sainte-Justine reçoivent une ou plusieurs transfusions de plaquettes. Les intensivistes prescrivent des transfusions de plaquettes dans un contexte de thrombocytopénie ou de saignement actif, quoiqu'aucun seuil transfusionnel n'ait été établi dans cette population. Le jeune âge est aussi un déterminant des transfusions. Notre étude met aussi en évidence une association potentielle entre transfusions de plaquettes et une augmentation de l'incidence de cas de syndrome de défaillance multiviscérale et de la mortalité. Nous n'avons pas été en mesure de déterminer l'impact des transfusions sur le niveau de plaquettes post transfusion étant donné la faible puissance de notre étude. Le tableau 1 de l'annexe montre tout de même

les différences pré-post transfusion de plaquettes qui semblent assez cliniquement importantes bien que statistiquement non significatives.

Bien que cette étude révèle de nouvelles données importantes quant aux pratiques transfusionnelles des intensivistes pédiatriques, les résultats sont à interpréter avec précaution, tout particulièrement en ce qui concerne l'association entre les transfusions de plaquettes et l'augmentation de la morbidité et de la mortalité. En effet, toute étude observationnelle comporte des biais inévitables qui peuvent compromettre l'interprétation de certains des résultats. Dans la prochaine partie de notre mémoire, nous discuterons du choix des méthodes que nous avons choisies, de la validité interne de notre étude et plus particulièrement du biais dénommé *confounding by indication* intrinsèquement associé à la nature de notre étude. Nous discuterons des stratégies utilisées ou à utiliser pour minimiser ce biais telle que l'analyse multivariée utilisée dans l'évaluation des déterminants des transfusions. Finalement, nous discuterons de la validité externe de notre étude et des prochaines étapes découlant de ce projet de recherche.

2.2 Le choix d'une étude observationnelle

L'étude randomisée contrôlée est la méthode la plus fiable et efficace pour vérifier s'il existe ou non un lien de causalité entre une exposition ou un traitement et un effet particulier. En effet, la randomisation d'un groupe assez important de participants devrait permettre d'obtenir une distribution équivalente des facteurs de confusions connus et inconnus dans le groupe traité ou exposé et dans le groupe contrôle. Bien qu'il s'agisse de la stratégie méthodologique optimale pour mesurer un lien de causalité, l'étude randomisée contrôlée n'est pas toujours possible. En effet, dans certains cas, des problèmes financiers, éthiques et

organisationnels peuvent en limiter sa faisabilité. Dans le cas de notre question de recherche, il n'existe pas encore suffisamment de données épidémiologiques sur les transfusions de plaquettes aux soins intensifs pédiatriques pour permettre la construction d'une étude randomisée contrôlée bien préparée. En effet, il serait délicat voire même éthiquement contestable de randomiser un groupe à recevoir des plaquettes et un autre groupe contrôle à ne pas en recevoir ou à recevoir des plaquettes à un compte plaquettaire plus bas alors que le risque de saignement existe et que les effets délétères associés aux transfusions de plaquettes sont encore en investigation. Par ailleurs, certains auteurs contestent même l'utilité de l'étude randomisée contrôlée telle quelle, car elle est effectuée dans un cadre tellement contrôlé que sa généralisabilité et sa validité externe sont contestables.(76) Certains auteurs suggèrent même que de bonnes études observationnelles pourraient être potentiellement plus utiles qu'une étude randomisée contrôlée.(77) C'est un point de vue qui n'est pas partagé par la majorité des experts en recherche clinique appliquée, mais il faut reconnaître qu'il serait inutile d'entreprendre un essai clinique randomisé contrôlé si une étude observationnelle n'a pas au préalable démontré une association entre le marqueur ou le facteur de risque et un sort délétère. Nous avons donc choisi d'entreprendre une étude prospective observationnelle malgré le risque inévitable de biais pouvant en affecter sa validité interne.

2.3 La validité interne

La validité interne d'une étude évalue la fiabilité et la crédibilité des résultats mesurés. Elle témoigne de la qualité de la conception et de l'exécution du projet de recherche et de l'impact plus ou moins significatif du ou des biais. Des biais peuvent survenir à chaque étape d'un projet de recherche, de sa conception à sa rédaction. Certains biais sont intrinsèquement

associés au choix d'une méthodologie et souvent difficile à éviter ou à contrôler. Dans notre étude observationnelle, le biais dénommé *confounding by indication* (biais de confusion en lien à l'indication de traitement ou à la maladie) s'est révélé être un biais impossible à contourner.

2.3.1. *Confounding by indication*

Les études observationnelles sont particulièrement à risque du *confounding by indication*. Ceci se produit lorsque l'on conclut faussement à un lien de cause à effet entre un traitement et une augmentation de la morbidité/mortalité alors qu'en réalité la décision d'administrer ce traitement est influencée par les caractéristiques intrinsèques du patient, comme par exemple la sévérité de sa maladie. Dans le cas de notre étude, la décision de transfuser pourrait directement être influencée par le degré de sévérité de la maladie du patient. Les intensivistes transfusent des plaquettes lorsque les patients sont thrombocytopéniques. Or, la thrombocytopénie est un marqueur de sévérité de maladie et semble plus fréquente chez les patients plus malades. Ainsi, il serait erroné de conclure que la sévérité de la maladie est un déterminant indépendant des transfusions de plaquettes. Il serait aussi délicat d'établir un lien de causalité entre les transfusions de plaquettes et une augmentation de la morbidité et de la mortalité puisque ce sont les patients les plus malades qui ont tendance à être thrombocytopénique et donc à recevoir plus de transfusions. Une étude observationnelle comme la nôtre peut identifier une association entre les transfusions de plaquettes et une augmentation de la mortalité et de la morbidité, mais en établir un lien de causalité serait une erreur.

Confounding by indication est une problématique souvent encourue dans les études observationnelles menées aux soins intensifs car la plupart des traitements administrés aux patients sont souvent directement influencés par la degré de gravité de la maladie (intubation, inotropes, plasmaphérèse etc.) et le jugement clinique du médecin traitant. Éviter le *confounding by indication* est un défi particulièrement difficile à surmonter lors de l'élaboration d'études observationnelles aux soins intensifs. L'usage d'un traitement se retrouve souvent à être un marqueur de sévérité de la maladie.(78)Ce biais est impossible à enrayer dans certaines études observationnelles. Les médecins administrent un traitement aux patients qui risquent d'en bénéficier et non de manière aléatoire.(79)

Plusieurs stratégies méthodologiques et statistiques ont été développées pour tenter d'éviter ou du moins limiter les effets du biais *confounding by indication*. L'appariement, la stratification, la restriction, l'analyse multivariée, le score de propensité et la variable instrumentale sont quelques-unes des stratégies statistiques employées dans les études observationnelles menées aux soins intensifs. Bien qu'aucune de ces méthodes n'abolissent complètement les effets d'un *confounding by indication*, il est justifié d'y recourir à l'occasion, car elles peuvent limiter l'impact de ce biais, du moins jusqu'à un certain point.

2.3.1.1 Stratification

Dans l'analyse stratifiée, les groupes (traitement et contrôle) sont stratifiés selon la présence ou l'absence du facteur confondant potentiel. Par la suite, on évalue l'association entre l'exposition et le critère de jugement séparément selon chaque strate. On peut aussi procéder à l'ajustement et à la restriction selon les facteurs de confusion potentiels identifiés(78).

Aux soins intensifs, la sévérité de la maladie est un facteur de confusion potentiel très important. Tel que mentionné précédemment, plusieurs traitements prescrits sont directement liés au degré de sévérité de la maladie : plus le patient est malade, plus il a des chances de recevoir un traitement. L'inférence d'un lien de cause à effet potentiel entre ce traitement et une augmentation de la sévérité de la maladie est très difficile. Plusieurs scores de sévérité de maladie ont donc été développés aux soins intensifs pour tenter de permettre une stratification du risque et tenter d'éliminer ce facteur de confusion. Les scores d'APACHE IV, le SAPS-II et le modèle de prédiction de la mortalité (MPM) ont été développés en soins intensifs adultes et ont tous de bonnes capacités de discrimination avec des AUROCs (*area under the receiver operator curve*) de 0.89, 0.87, 0.81 respectivement.(80)[4] Cependant, leur validation externe est plus faible avec des AUROCs de 0.7 à 0.8.(81,82) Dans notre étude, nous avons mesuré la sévérité de la maladie selon les scores de PRISM et PELOD. Le score de PRISM (*Pediatric Risk of Mortality score*) est une échelle clinimétrique qui évalue le risque de mortalité pédiatrique. Ce score a démontré un bon pouvoir de discrimination avec un AUROC de 0.94.(83) Le PELOD (*Pediatric Logistic Organ Dysfunction*) est un autre type de score qui évalue cette fois-ci le risque de défaillance multi-viscérale et de mortalité. Ce score a été développé parce que la mortalité pédiatrique est très faible; adjoindre mortalité et défaillance multi-viscérale permet d'obtenir un meilleur pouvoir discriminant (AUROC >0.91).[5, 6] Un ajustement adéquat du risque selon la sévérité de la maladie semble malheureusement insuffisant pour enrayer complètement le risque de *confounding by indication* des études observationnelles. Une étude récente publiée dans *Critical Care Medicine* a cherché à déterminer l'impact de l'ajustement selon la sévérité de la maladie sur la fiabilité des études observationnelles en développant une simulation de Monte-Carlo. Malgré un ajustement du

risque adéquat, le risque de biais par *confounding by indication* n'a pu être complètement éliminé, notamment lorsque la taille de l'échantillon de l'étude était grande.(85)

2.3.1.2 Restriction

Les patients d'une étude peuvent être choisis selon des caractéristiques démographiques très particulières ou restreintes. Ceci permet d'uniformiser autant que possible les groupes à l'étude. Par exemple, aux soins intensifs, on pourrait décider d'étudier les transfusions de plaquettes uniquement chez les patients avec sepsis, intubés avec un PRISM de 7 et plus. Cette stratégie peut aider à réduire la disparité entre les groupes et augmenter leur comparabilité. Cependant, dans une étude telle que la nôtre, elle peut devenir très contraignante et diminuer significativement le nombre de patients éligibles. Cette stratégie est peu attirante dans le contexte d'études où l'évènement ou traitement à l'étude est rare.

2.3.1.3 Analyse multivariée

L'analyse multivariée de notre étude visait à identifier les déterminants associés aux transfusions de plaquettes en tenant compte le mieux possible des facteurs de confusion potentiels tel que la sévérité de la maladie. Nous avons effectué une régression logistique binaire puisque la variable dépendante à l'étude (les transfusions de plaquettes) est une variable dichotomique (transfusion de plaquettes oui/non). Nous avons inclus dans notre modèle multivarié les variables étant ressorties statistiquement significatives dans l'analyse univariée ainsi que les variables comportant un grand risque de confusion tel que l'âge. Nous avons exclus les variables ayant trop de colinéarité. Notre modèle n'a retenu que la thrombocytopénie et l'âge comme réels déterminants significatifs des transfusions de plaquettes. Nous n'avons malheureusement pas fait d'analyse multivariée pour l'évaluation de l'impact des transfusions sur les issues (critères de jugement). Une analyse multivariée n'est possible que si l'on identifie

une issue principale. Dans le cas des déterminants, l'issue principale est la transfusion oui/non. Dans l'évaluation de l'impact des transfusions, nous avons évalué plusieurs issues en même temps. Il aurait été difficile d'identifier une issue principale puisque d'une part elles peuvent corrélées entre elles et d'autre part il est difficile de déterminer quelle est l'issue la plus importante. Nous aurions pu potentiellement développer une issue composite.

2.3.1.4 *Score de propensité*

Une autre stratégie permettant de diminuer le risque d'un biais de sélection est le développement d'un score de propensité; nous n'avons pas exploité cette stratégie dans notre étude. Cette stratégie consiste à comparer des individus du groupe recevant le traitement à des individus du groupe comparatif partageant la même propensité ou risque à recevoir ce traitement, et ce selon des variables établies. Le score de propensité représente un score qui mesure la probabilité d'un individu à recevoir un traitement selon des caractéristiques préétablies. Les individus des groupes traitement vs. contrôle sont appariés selon ce score. Ceci permet de contrôler jusqu'à un certain point pour les facteurs de confusion connus et diminuer les biais de sélection. Contrairement au modèle de régression logistique, le score de propensité ne limite pas le nombre de variables que l'on peut inclure. Ceci pourrait théoriquement augmenter la comparabilité des groupes à l'étude. Ce score ne permet cependant pas de contrôler pour les facteurs de confusion potentiels inconnus ou non mesurés. Ce score ne mesure que les variables observées et connues et laisse place à un biais de confusion résiduel potentiel. La généralisabilité des résultats est aussi parfois affectée, car certains individus qui ne possèdent pas le même score de propensité sont exclus de l'analyse.(86)

2.3.1.5 *La variable instrumentale (instrumental variable)*

La variable instrumentale est une méthode qui consiste à mesurer l'effet d'une exposition sur une variable directement associée à cette exposition, mais complètement indépendante du critère de jugement faisant l'objet principal de l'étude. L'idée de base est de vérifier si l'exposition agit de la même façon sur deux critères de jugement différents. Le choix de la variable instrumentale est crucial. Celle-ci doit être 1) associée à l'intervention (ou exposition) ,2) elle ne peut pas directement influencer le critère de jugement étudié et 3) elle doit être indépendante des facteurs de confusion potentiels. Toutefois, une variable instrumentale peut agir sur le critère de jugement indirectement en influençant l'exposition ou l'intervention. L'intérêt principal de recourir à une variable instrumentale est que cela permettrait, du moins en théorie, de contrôler pour les facteurs de confusion connus et inconnus.(87)

Les facteurs de confusion ont été assez bien contrôlés dans notre étude pour qu'on puisse se permettre d'affirmer que notre évaluation des déterminants des transfusions est fiable dans la mesure du possible, quoique d'autres stratégies de contrôle auraient pu être envisagées ou pourraient être envisagées dans le cadre d'études futures. Par contre, l'interprétation de l'association des transfusions de plaquettes avec la mortalité/morbidité est à interpréter avec précaution. Nous pouvons certainement conclure qu'il y a une association, mais pas qu'il existe un lien de causalité. Notre étude met en lumière un risque potentiel qui doit être vérifié par une étude randomisée contrôlée.

D'autres types de biais sont aussi susceptibles de s'introduire dans une étude observationnelle risquant d'en affecter sa validité interne; il s'agit entre autres des biais d'information et de sélection.

2.3.2 Le biais d'information

Le biais d'information témoigne d'une erreur systématique s'introduisant dans l'étude lorsque la mesure de l'observation est incorrecte. Dans le cadre de notre étude, ce biais aurait pu s'introduire à trois niveaux: lors de l'identification des patients ayant reçu ou non une transfusion, lors de l'identification des déterminants ou lors du diagnostic des issues (*critères de jugement*). Le biais d'information peut être différentiel, c'est-à-dire qu'il affecte préférentiellement la population exposée ou non exposée, ou non différentiel auquel cas il est présent dans tous les groupes.

En ce qui a trait aux transfusions, nous ne croyons pas qu'il y ait eu de biais d'information. Les transfusions sont enregistrées dans le dossier des patients et systématiquement à la banque de sang du CHU Sainte-Justine. Nous avons par ailleurs exclu toutes les transfusions administrées en salle d'opération même au cours du séjour aux soins intensifs.

L'évaluation des déterminants et des critères de jugement s'est fait en utilisant les directives d'un *case report form* (CRF) validé au préalable. Ce CRF a été méticuleusement développé. Une définition était donnée pour chaque déterminant et critère de jugement pour aider à la collecte de données. L'exactitude du CRF a été vérifiée avant la collecte, durant la collecte de données et durant l'analyse lors de l'évaluation de données aberrantes. Nous croyons que si un biais d'information s'est introduit dans notre étude, il fut probablement très minime et non-différentiel, affectant à la fois la population exposée et non exposée. Ce biais non différentiel aurait eu pour conséquence de diluer la mesure de notre effet plutôt que d'amplifier une fausse association.

2.3.4 *Le biais de sélection*

Le biais de sélection est une erreur systématique qui survient lors de la sélection des sujets étudiés lorsque que ceux-ci ne sont pas représentatifs de la population globale supposée être étudiée. Dans notre étude, un biais de sélection se serait introduit si les sujets étudiés exposés et non exposés aux transfusions n'avaient pas été représentatifs de la population typique des soins intensifs pédiatriques et que la proportion des transfusés/non transfusés n'avait pas été représentative de la réalité. Nous ne croyons pas qu'un tel biais ait pu s'introduire dans notre étude puisque nous avons recrutés tous les patients admis consécutivement aux soins intensifs. Par ailleurs, nous avons peu de critères d'exclusion (âge, grossesse).

2.4 La validité externe

Une étude a une bonne validité externe lorsque l'on peut généraliser ses résultats à la population réelle. Elle dépend tout d'abord de la validité interne de l'étude (sa fiabilité). Autrement dit, il ne peut pas y avoir de validité externe s'il n'y a pas de validité interne. La validité externe dépend de la population étudiée et du contexte de l'étude. Bien que le débit annuel de patients et l'étendue de pathologies encourues au CHU Sainte-Justine sont relativement grands, cette étude a eut lieu dans un seul centre. Il est difficile de conclure que les pratiques et déterminants mesurés dans notre centre représentent les pratiques de toutes les unités de soins intensifs pédiatriques à travers le monde ou même simplement en Amérique du Nord. Les unités de soins intensifs pédiatriques en Amérique du Nord varient selon leur taille, selon leur population (ethnie, pathologies) et selon les soins reçus (chirurgie cardiaque ou non). Par ailleurs, les pratiques de transfusions de plaquettes ne sont pas standardisées et il est donc

possible que les médecins de différentes unités prescrivent selon leur culture médicale (lieu de formation, influence de collègues, etc.) Une étude multicentrique regroupant plusieurs centres de différents pays nous permettrait d'optimiser la généralisabilité de nos résultats.

Chapitre 4 : Conclusions et perspectives

Malgré certaines limites, nos études ont permis d'établir des connaissances de base essentielles à la poursuite de travaux futurs. Nous avons démontré que la fréquence des épisodes d'hypotension post transfusion de plaquettes semble plus rare que ce qui est rapporté dans la littérature et qu'il ne semble pas exister d'association entre ces événements et le taux de bradykinines. Nous avons aussi démontré que les intensivistes transfusent lors de saignement aigu et lors de thrombocytopénie. Les seuils transfusionnels employés aux soins intensifs sont plus élevés que rapportés en hématologie-oncologie et sont plutôt variables. Par ailleurs, notre étude suggère une association entre transfusions de plaquettes et une mortalité/morbidité accrue. Cette association doit être interprétée avec prudence car la nature observationnelle de notre étude ne permettait pas d'éliminer certains biais tel que le *confounding by indication*. Nous avons entrepris une étude unicentrique qui représente les pratiques d'un seul centre hospitalier pédiatrique tertiaire. La prochaine étape est de valider nos résultats avec une étude observationnelle multicentrique sur le même sujet regroupant plusieurs centres tertiaires afin de confirmer les pratiques transfusionnelles de plusieurs centres (Amérique du Nord/Europe). Par la suite, il s'agira de déterminer quels sont les seuils transfusionnels à adopter aux soins intensifs pédiatriques afin d'éviter le saignement, mais aussi éviter une exposition non nécessaire à ces produits sanguins potentiellement délétères. Nous élaborerons une étude randomisée contrôlée selon laquelle nous randomiserons des groupes à des seuils transfusionnels différents et mesurerons l'impact sur le syndrome de défaillance multi-viscérale et la mortalité. L'objectif final sera de développer des recommandations pour soutenir les pratiques des intensivistes et d'en assurer l'implantation (transfert de connaissances).

Annexe

Tableaux et figures

Fig. 1 Bradykinin levels in PCs associated with clinically significant hypotension and in controls

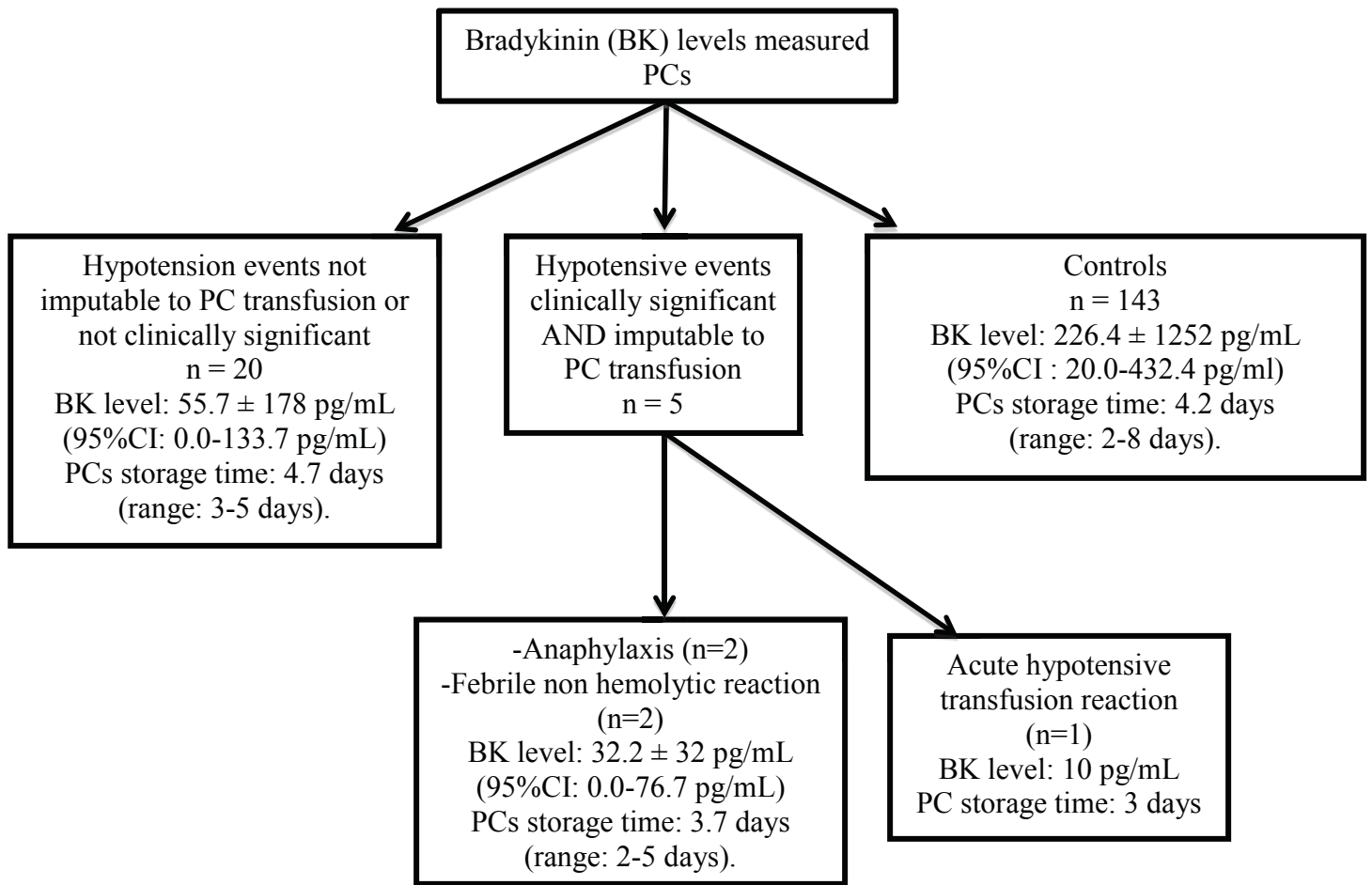


TABLE 1: Justification for First Platelet Transfusion Stated by Ordering Physician (n=60) and Associated Pre- and Post-transfusion Platelet Count^a

Justification	Physicians n (%)	Pre-transfusion plt count (x10 ⁹ /L) ^b mean ± SD, median ^d	Post- transfusion plt count (x10 ⁹ /L) ^c mean ± SD, median ^e	Pre and post plt difference (x10 ⁹ /L) mean ± SD, median	p-value ^f
Low platelet count	23(38)	32 ± 27, 21	89± 49, 75	+57 ± 51, 58	p=0.1
Significant bleeding	12(20)	76 ± 39, 72	182± 70, 183	+106 ± 71, 92	p=0.1
Other justification	8(13)	38 ± 29, 33	92 ± 48, 92	+54 ± 38, 49	p=0.1
Invasive technique	4(7)	85 ± 32, 77	147 ± 54, 136	+62 ± 54, 41	p=0.1
Prior to urgent surgery	3(5)	57 ± 26, 60	92 ± 24, 92	+35 ± 44, 11	P=0.2
ECMO	3(5)	68 ± 15, 62	136 ± 31, 126	+68 ± 17, 64	p=0.04
Underlying disease	1(2)	71	148	+77, 77	-
Plasmapheresis	1(2)	30	44	+14, 14	-
DIC	1(2)	49	114	+65,65	-

ECMO; extra-corporeal membrane oxygenation, DIC; disseminated intravascular coagulation
Other justification (n); postoperative of cardiac surgery (1), postoperative liver transplant (1), cardiac arrest due to hemorrhagic shock (1), sternal closure (1), leukopheresis (1), liver puncture (1), and unanswered (2).

^aFirst-ranked justification for platelet transfusion per ordering physician

^bLast platelet count before first platelet transfusion in PICU.

^cFirst platelet count after first platelet transfusion in PICU (platelet count was done within 24 hr post first transfusion in all patients)

^dp=0.006, pre-transfusion platelet levels vary significantly depending on the justification

^ep=0.010, post-transfusion platelet levels vary significantly depending on the justification.

^fp-value for pre and post platelet transfusion difference

Références

1. Kleinman S, Reed W, Stassinopoulos A. A patient-oriented risk-benefit analysis of pathogen-inactivated blood components: application to apheresis platelets in the United States. *Transfusion (Paris)*. 2013 Jul;53(7):1603–18.
2. Jacobs MR, Smith D, Heaton WA, Zantek ND, Good CE, PGD Study Group. Detection of bacterial contamination in prestorage culture-negative apheresis platelets on day of issue with the Pan Genera Detection test. *Transfusion (Paris)*. 2011 Dec;51(12):2573–82.
3. Popovsky, MA. *Transfusion reactions*. 2nd ed. Bethesda; AABB Press; 2001. 468 p.
4. Cook D, Crowther M, Meade M, Rabbat C, Griffith L, Schiff D, et al. Deep venous thrombosis in medical-surgical critically ill patients: prevalence, incidence, and risk factors. *Crit Care Med*. 2005 Jul;33(7):1565–71.
5. Sweeney, Lozano. *Platelet Transfusion Therapy*. AABB Press; 2013. Chapter 1, page 2.
6. Smock KJ, Perkins SL. Thrombocytopenia: an update. *Int J Lab Hematol*. 2014 Jun;36(3):269–78.
7. Gauvin F, Toledano B, Champagne J, Lacroix J. Reactive hemophagocytic syndrome presenting as a component of multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med*. 2000 Sep;28(9):3341–5.
8. Antier N, Quenot J-P, Doise J-M, Noel R, Demaistre E, Devilliers H. Mechanisms and etiologies of thrombocytopenia in the intensive care unit: impact of extensive investigations. *Ann Intensive Care*. 2014 Aug 2;4:24.
9. Lieberman L, Bercovitz RS, Sholapur NS, Heddle NM, Stanworth SJ, Arnold DM. Platelet transfusions for critically ill patients with thrombocytopenia. *Blood*. 2014 Feb 20;123(8):1146–51; quiz 1280.
10. Lim SY, Jeon EJ, Kim H-J, Jeon K, Um S-W, Koh W-J, et al. The incidence, causes, and prognostic significance of new-onset thrombocytopenia in intensive care units: a prospective cohort study in a Korean hospital. *J Korean Med Sci*. 2012 Nov;27(11):1418–23.
11. Romlin BS, Soderlund F, Wahlander H, Nilsson B, Baghaei F, Jeppsson A. Platelet count and function in paediatric cardiac surgery: a prospective observational study. *Br J Anaesth*. 2014 Nov 1;113(5):847–54.
12. Verma AK, Levine M, Shalansky SJ, Carter CJ, Kelton JG. Frequency of heparin-induced thrombocytopenia in critical care patients. *Pharmacotherapy*. 2003 Jun;23(6):745–53.

13. Williamson DR, Albert M, Heels-Ansdell D, Arnold DM, Lauzier F, Zarychanski R, et al. Thrombocytopenia in critically ill patients receiving thromboprophylaxis: frequency, risk factors, and outcomes. *Chest*. 2013 Oct;144(4):1207–15.
14. Hanes SD, Quarles DA, Boucher BA. Incidence and risk factors of thrombocytopenia in critically ill trauma patients. *Ann Pharmacother*. 1997 Mar;31(3):285–9.
15. Stanworth SJ, Walsh TS, Prescott RJ, Lee RJ, Watson DM, Wyncoll DLA, et al. Thrombocytopenia and platelet transfusion in UK critical care: a multicenter observational study. *Transfusion (Paris)*. 2013 May;53(5):1050–8.
16. Roberts I, Stanworth S, Murray NA. Thrombocytopenia in the neonate. *Blood Rev*. 2008 Jul;22(4):173–86.
17. Warner P, Fields AL, Braun LC, James LE, Bailey JK, Yakuboff KP, et al. Thrombocytopenia in the pediatric burn patient. *J Burn Care Res Off Publ Am Burn Assoc*. 2011 Jun;32(3):410–4.
18. Sezgi C, Taylan M, Kaya H, Selimoglu Sen H, Abakay O, Demir M, et al. Alterations in platelet count and mean platelet volume as predictors of patient outcome in the respiratory intensive care unit. *Clin Respir J*. 2014 Apr 14;
19. Krishnan J, Morrison W, Simone S, Ackerman A. Implications of thrombocytopenia and platelet course on pediatric intensive care unit outcomes. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc*. 2008 Sep;9(5):502–5.
20. Agrawal S, Sachdev A, Gupta D, Chugh K. Platelet counts and outcome in the pediatric intensive care unit. *Indian J Crit Care Med Peer-Rev Off Publ Indian Soc Crit Care Med*. 2008 Jul;12(3):102–8.
21. Wang T, Liu Z, Wang Z, Duan M, Li G, Wang S, et al. Thrombocytopenia is associated with acute respiratory distress syndrome mortality: an international study. *PloS One*. 2014;9(4):e94124.
22. Hui P, Cook DJ, Lim W, Fraser GA, Arnold DM. The frequency and clinical significance of thrombocytopenia complicating critical illness: a systematic review. *Chest*. 2011 Feb;139(2):271–8.
23. Strauss R, Wehler M, Mehler K, Kreutzer D, Koebnick C, Hahn EG. Thrombocytopenia in patients in the medical intensive care unit: bleeding prevalence, transfusion requirements, and outcome. *Crit Care Med*. 2002 Aug;30(8):1765–71.
24. Venkata C, Kashyap R, Farmer JC, Afessa B. Thrombocytopenia in adult patients with sepsis: incidence, risk factors, and its association with clinical outcome. *J Intensive Care*. 2013;1(1):9.

25. Gaydos LA, Freireich EJ, Mantel N. The Quantitative Relation between Platelet Count and Hemorrhage in Patients with Acute Leukemia. *N Engl J Med*. 1962 May 3;266(18):905–9.
26. Parker RI. Transfusion in critically ill children: indications, risks, and challenges. *Crit Care Med*. 2014 Mar;42(3):675–90.
27. Du Pont-Thibodeau G, Tucci M, Robitaille N, Ducruet T, Lacroix J. Platelet Transfusions in Pediatric Intensive Care. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc*. 2016 Sep;17(9):e420–9.
28. Silliman CC. Platelet: RBC ratios: randomized controlled trials are needed for optimal resuscitation of injured patients. *Crit Care Med*. 2013 Dec;41(12):2834–5.
29. Stanworth SJ, Estcourt LJ, Powter G, Kahan BC, Dyer C, Choo L, et al. A no-prophylaxis platelet-transfusion strategy for hematologic cancers. *N Engl J Med*. 2013 May 9;368(19):1771–80.
30. Harrison P. Platelet function analysis. *Blood Rev*. 2005 Mar;19(2):111–23.
31. Murphy S, Gardner FH. Platelet Preservation: Effect of Storage Temperature on Maintenance of Platelet Viability —Deleterious Effect of Refrigerated Storage. *N Engl J Med*. 1969 May 15;280(20):1094–8.
32. Hoffmeister KM, Felbinger TW, Falet H, Denis CV, Bergmeier W, Mayadas TN, et al. The clearance mechanism of chilled blood platelets. *Cell*. 2003 Jan 10;112(1):87–97.
33. Eder AF, Kennedy JM, Dy BA, Notari EP, Weiss JW, Fang CT, et al. Bacterial screening of apheresis platelets and the residual risk of septic transfusion reactions: the American Red Cross experience (2004-2006). *Transfusion (Paris)*. 2007 Jul;47(7):1134–42.
34. Mathai J. Problem of bacterial contamination in platelet concentrates. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis*. 2009 Oct;41(2):139–44.
35. Arnold DM, Crowther MA, Cook RJ, Sigouin C, Heddle NM, Molnar L, et al. Utilization of platelet transfusions in the intensive care unit: indications, transfusion triggers, and platelet count responses. *Transfusion (Paris)*. 2006 Aug;46(8):1286–91.
36. Kaur A, Sethi GK, Goyal RK, Kaur A, Kaur R, Dhir SK, et al. Thrombocytopenia in Paediatric ICU: Incidence, Transfusion Requirement and Role as Prognostic Indicator. *J Clin Diagn Res JCDR*. 2015 Dec;9(12):SC05–7.
37. Thomas L, Kaidomar S, Kerob-Bauchet B, Moravie V, Brouste Y, King JP, et al. Prospective observational study of low thresholds for platelet transfusion in adult dengue patients. *Transfusion (Paris)*. 2009 Jul;49(7):1400–11.

38. Stephan null, Montblanc null, Cheffi null, Bonnet null. Thrombocytopenia in critically ill surgical patients: a case-control study evaluating attributable mortality and transfusion requirements. *Crit Care Lond Engl*. 1999;3(6):151–8.
39. Stéphan F, Hollande J, Richard O, Cheffi A, Maier-Redelsperger M, Flahault A. Thrombocytopenia in a surgical ICU. *Chest*. 1999 May;115(5):1363–70.
40. Von Lindern JS, van den Bruele T, Lopriore E, Walther FJ. Thrombocytopenia in neonates and the risk of intraventricular hemorrhage: a retrospective cohort study. *BMC Pediatr*. 2011;11:16.
41. Stanworth SJ, Clarke P, Watts T, Ballard S, Choo L, Morris T, et al. Prospective, observational study of outcomes in neonates with severe thrombocytopenia. *Pediatrics*. 2009 Nov;124(5):e826–34.
42. Andrew M, Vegh P, Caco C, Kirpalani H, Jefferies A, Ohlsson A, et al. A randomized, controlled trial of platelet transfusions in thrombocytopenic premature infants. *J Pediatr*. 1993 Aug;123(2):285–91.
43. Curley A, Venkatesh V, Stanworth S, Clarke P, Watts T, New H, et al. Platelets for neonatal transfusion - study 2: a randomised controlled trial to compare two different platelet count thresholds for prophylactic platelet transfusion to preterm neonates. *Neonatology*. 2014;106(2):102–6.
44. US Food and Drug Administration. Fatalities reported to FDA following blood collection and transfusion: annual summary for fiscal year 2010. CBER Office of Compliance and Biologics Quality, Rockville, MD; 2012.
45. Chapman, Stainsby. Ten years of hemovigilance reports of transfusion-related acute lung injury in the United Kingdom and the impact of preferential use of male donor plasma. *Transfusion (Paris)*. 2009;49:440–52.
46. Middelburg RA, Borkent-Raven BA, Borkent B, Janssen MP, Jansen M, van de Watering LMG, et al. Storage time of blood products and transfusion-related acute lung injury. *Transfusion (Paris)*. 2012 Mar;52(3):658–67.
47. Katz JN. Beyond Thrombosis: The Versatile Platelet in Critical Illness. *CHEST J*. 2011 Mar 1;139(3):658.
48. Vande Vusse LK, Madtes DK, Guthrie KA, Gernsheimer TB, Curtis JR, Watkins TR. The association between red blood cell and platelet transfusion and subsequently developing idiopathic pneumonia syndrome after hematopoietic stem cell transplantation. *Transfusion (Paris)*. 2013 Aug 27;
49. Bilgin YM, van de Watering LMG, Versteegh MIM, van Oers MHJ, Vamvakas EC, Brand A. Postoperative complications associated with transfusion of platelets and plasma in cardiac surgery. *Transfusion (Paris)*. 2011 Dec;51(12):2603–10.

50. Muylle L, Wouters E, De Bock R, Peetermans ME. Reactions to platelet transfusion: the effect of the storage time of the concentrate. *Transfus Med Oxf Engl*. 1992 Dec;2(4):289–93.
51. Inaba K, Branco BC, Rhee P, Blackburne LH, Holcomb JB, Spinella PC, et al. Impact of the Duration of Platelet Storage in Critically Ill Trauma Patients: *J Trauma Inj Infect Crit Care*. 2011 Dec;71(6):1766–74.
52. Gauvin F, Toledano B, Hume HA, Lacroix J. Hypotensive reactions associated with platelet transfusion through leucocyte reduction filters. *Intensive Care Med*. 2000;(14):329–32.
53. Takahashi TA, Abe H, Hosoda M, Nakai K, Sekiguchi S. Bradykinin generation during filtration of platelet concentrates with a white cell-reduction filter. *Transfusion (Paris)*. 1995 Dec;35(11):967.
54. Hild M, Söderström T, Egberg N, Lundahl J. Kinetics of bradykinin levels during and after leucocyte filtration of platelet concentrates. *Vox Sang*. 1998;75(1):18–25.
55. Gauvin F, Lacroix J, Robillard P, Lapointe H, Hume H. Acute transfusion reactions in the pediatric intensive care unit. *Transfusion (Paris)*. 2006 Nov;46(11):1899–908.
56. Cyr M, Hume HA, Champagne M, Sweeney JD, Blais C Jr, Gervais N, et al. Anomaly of the des-Arg⁹-bradykinin metabolism associated with severe hypotensive reactions during blood transfusions: a preliminary study. *Transfusion (Paris)*. 1999 Oct;39(10):1084–8.
57. Moreau ME, Thibault L, Désormeaux A, Chagnon M, Lemieux R, Robillard P, et al. Generation of kinins during preparation and storage of whole blood-derived platelet concentrates. *Transfusion (Paris)*. 2007 Mar;47(3):410–20.
58. Owen HG, Brecher ME. Atypical reactions associated with use of angiotensin-converting enzyme inhibitors and apheresis. *Transfusion (Paris)*. 1994 Oct;34(10):891–4.
59. Cyr M, Eastlund T, Blais C Jr, Rouleau JL, Adam A. Bradykinin metabolism and hypotensive transfusion reactions. *Transfusion (Paris)*. 2001 Jan;41(1):136–50.
60. Campos MM, Souza GE, Calixto JB. Upregulation of B1 receptor mediating des-Arg⁹-BK-induced rat paw oedema by systemic treatment with bacterial endotoxin. *Br J Pharmacol*. 1996 Mar;117(5):793–8.
61. Cruwys SC, Garrett NE, Perkins MN, Blake DR, Kidd BL. The role of bradykinin B1 receptors in the maintenance of intra-articular plasma extravasation in chronic antigen-induced arthritis. *Br J Pharmacol*. 1994 Nov;113(3):940–4.
62. Oh-ishi S, Tokumasu T, Ueno A. Induction of a B1-receptor mediating hypotensive response in young brown Norway rats. *Immunopharmacology*. 1996 Jun;33(1-3):101–3.

63. Blais C, Marc-Aurèle J, Simmons WH, Loute G, Thibault P, Skidgel RA, et al. Des-Arg9-bradykinin metabolism in patients who presented hypersensitivity reactions during hemodialysis: role of serum ACE and aminopeptidase P. *Peptides*. 1999;20(4):421–30.
64. Vianna RM, Calixto JB. Characterization of the receptor and the mechanisms underlying the inflammatory response induced by des-Arg9-BK in mouse pleurisy. *Br J Pharmacol*. 1998 Jan;123(2):281–91.
65. McCullough J, Steeper TA, Connelly DP, Jackson B, Huntington S, Scott EP. Platelet utilization in a university hospital. *JAMA*. 1988 Apr 22;259(16):2414–8.
66. Pisciotto PT, Benson K, Hume H, Glassman AB, Oberman H, Popovsky M, et al. Prophylactic versus therapeutic platelet transfusion practices in hematology and/or oncology patients. *Transfusion (Paris)*. 1995 Jun;35(6):498–502.
67. Rebullà P, Finazzi G, Marangoni F, Avvisati G, Gugliotta L, Tognoni G, et al. The threshold for prophylactic platelet transfusions in adults with acute myeloid leukemia. Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto. *N Engl J Med*. 1997 Dec 25;337(26):1870–5.
68. Heckman KD, Weiner GJ, Davis CS, Strauss RG, Jones MP, Burns CP. Randomized study of prophylactic platelet transfusion threshold during induction therapy for adult acute leukemia: 10,000/microL versus 20,000/microL. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1997 Mar;15(3):1143–9.
69. Wandt H, Schaefer-Eckart K, Wendelin K, Pilz B, Wilhelm M, Thalheimer M, et al. Therapeutic platelet transfusion versus routine prophylactic transfusion in patients with haematological malignancies: an open-label, multicentre, randomised study. *Lancet*. 2012 Oct 13;380(9850):1309–16.
70. Kumar A, Mhaskar R, Grossman BJ, Kaufman RM, Tobian AAR, Kleinman S, et al. Platelet transfusion: a systematic review of the clinical evidence. *Transfusion (Paris)*. 2015 May;55(5):1116–27.
71. Kaufman RM, Djulbegovic B, Gernsheimer T, Kleinman S, Tinmouth AT, Capocelli KE, et al. Platelet transfusion: a clinical practice guideline from the AABB. *Ann Intern Med*. 2015 Feb 3;162(3):205–13.
72. Van der Linden T, Souweine B, Dupic L, Soufir L, Meyer P. Management of thrombocytopenia in the ICU (pregnancy excluded). *Ann Intensive Care*. 2012;2(1):42.
73. Adverse reactions to platelet transfusions reported. *Blood Bank Week*. 1993;10:1–2.
74. Robillard P, Nawej KI, Jochem K. The Quebec hemovigilance system: description and results from the first two years. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis*. 2004 Oct;31(2):111–22.

75. Li N, Williams L, Zhou Z, Wu Y. Incidence of acute transfusion reactions to platelets in hospitalized pediatric patients based on the US hemovigilance reporting system. *Transfusion (Paris)*. 2014 Jun;54(6):1666–72.
76. Ospina-Tascón GA, Büchele GL, Vincent J-L. Multicenter, randomized, controlled trials evaluating mortality in intensive care: doomed to fail? *Crit Care Med*. 2008 Apr;36(4):1311–22.
77. Harhay MO, Wagner J, Ratcliffe SJ, Bronheim RS, Gopal A, Green S, et al. Outcomes and statistical power in adult critical care randomized trials. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014 Jun 15;189(12):1469–78.
78. Psaty BM, Koepsell TD, Lin D, Weiss NS, Siscovick DS, Rosendaal FR, et al. Assessment and control for confounding by indication in observational studies. *J Am Geriatr Soc*. 1999 Jun;47(6):749–54.
79. Miettinen OS. The need for randomization in the study of intended effects. *Stat Med*. 1983 Jun;2(2):267–71.
80. Kuzniewicz MW, Vasilevskis EE, Lane R, Dean ML, Trivedi NG, Rennie DJ, et al. Variation in ICU risk-adjusted mortality: impact of methods of assessment and potential confounders. *Chest*. 2008 Jun;133(6):1319–27.
81. Cooke CR, Kahn JM, Caldwell E, Okamoto VN, Heckbert SR, Hudson LD, et al. Predictors of hospital mortality in a population-based cohort of patients with acute lung injury. *Crit Care Med*. 2008 May;36(5):1412–20.
82. Osborn TM, Phillips G, Lemeshow S, Townsend S, Schorr CA, Levy MM, et al. Sepsis severity score: an internationally derived scoring system from the surviving sepsis campaign database*. *Crit Care Med*. 2014 Sep;42(9):1969–76.
83. Lacroix J, Cotting J, Pediatric Acute Lung Injury and Sepsis Investigators (PALISI) Network. Severity of illness and organ dysfunction scoring in children. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc*. 2005 May;6(3 Suppl):S126–34.
84. Leteurtre S, Martinot A, Duhamel A, Proulx F, Grandbastien B, Cotting J, et al. Validation of the paediatric logistic organ dysfunction (PELOD) score: prospective, observational, multicentre study. *Lancet*. 2003 Jul 19;362(9379):192–7.
85. Sjoding MW, Luo K, Miller MA, Iwashyna TJ. When do confounding by indication and inadequate risk adjustment bias critical care studies? A simulation study. *Crit Care Lond Engl*. 2015 Apr 30;19:195.
86. Laborde-Castérot H, Agrinier N, Thilly N. Performing both propensity score and instrumental variable analyses in observational studies often leads to discrepant results: a systematic review. *J Clin Epidemiol*. 2015 Oct;68(10):1232–40.

87. Baiocchi M, Cheng J, Small DS. Instrumental variable methods for causal inference. *Stat Med.* 2014 Jun 15;33(13):2297–340.